

ISSN 0355-1180

HELSINGIN YLIOPISTO

Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos

EKT-sarja 1848

PAKASTERUISLEIVÄN LAADUN JA SÄILYVYYDEN PARANTAMINEN

Anu Hokkanen

Helsinki 2018

Tiedekunta – Fakultet – Faculty Maatalous-metsätieteellinen		Laitos – Institution – Department Elintarvike- ja ravitsemustieteiden osasto	
Tekijä – Författare – Author Anu Hokkanen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Pakasteruisleivän laadun ja säilyvyyden parantaminen			
Oppiaine – Läroämne – Subject Elintarviketeknologia (viljateknologia)			
Työn laji – Arbetets art – Level Maisterin tutkielma	Aika – Datum – Month and year Toukokuu 2018	Sivumäärä/ Sidoantal – Number of pages 91	
<p>Tiivistelmä – Referat – Abstract</p> <p>Tutkielman kirjallisuuskatsauksessa selvitettiin rukiin tärkeimpiä leivontaominaisuuksia, pakastuksen vaikutuksia leivän laatuun sekä keinoja parantaa pakasteleipien laatua ja säilyvyyttä. Pakkasvarastoinnin aikana pakasteleipien laatu heikkenee leivän sisuksessa tapahtuvan kosteuden siirtymisen takia ja siksi vedensidontakyvyn hallinta on pakasteruisleipien valmistuksessa tärkeää. Kokeellisessa osiossa tavoitteena oli kehittää lisäaineeton pakasteruisleipä, jonka pakkasvarastoinnin aiheuttamat laatuvauriot ja säilyvyyden huononeminen saataisiin mahdollisimman hyvin ehkäistyä. Käytännössä pakasteruisleivän kauppalaatua heikentää sisuksen kovenemisen ja tilavuuden pienenemisen lisäksi kosteuden siirtymisestä ja jään sublimoitumisesta johtuva valkea rengas ruisleivän kuoren alla. Tutkimuksessa ruisleivän vedensidontakykyä pyrittiin parantamaan kolmen tutkimukseen valitun apuaineen; entsyymi-, mallas- ja hydrokolloidituotteen, lisäyksillä.</p> <p>Leivonnoissa valmistettiin yksinkertaisen reseptin mukaan neljä ruistaikinaa, joista kolmeen lisättiin yhtä tutkimukseen valituista apuaineista. Ruisleiville suoritettiin sekä paiston että neljän viikon pakastuksen (-18 °C) jälkeen painojen, tilavuuksien ja kovuuksien mittaukset sekä aistinvaraiset arvioinnit. Tutkimuksen pohjalta pakasteruisleipien laatua ja säilyvyyttä paransi eniten entsyymilisäys, joka mm. kasvatti ruisleipien ominaistilavuutta, happamuutta ja pakastuksen jälkeistä pehmeyttä. Käytetty entsyymi lisäsi kuitenkin merkitsevästi ruisleipien painohäviötä kasvattamalla taikinan löysyyttä. Valitun mallastuotteen käytön ei havaittu parantavan pakasteruisleipien laatua tai säilyvyyttä. Hydrokolloidilisäys puolestaan pienensi painohäviötä, mutta kovetti ruisleipien rakennetta. Voimakkaasti vettä sitova hydrokolloidi oli ainoa, joka ehkäisi valkean renkaan syntymistä pakasteruisleivissä renkaan muodostumista nopeuttavissa olosuhteissa (2 vko, -10 °C).</p>			
<p>Avainsanat – Nyckelord – Keywords</p> <p>Ruisleivonta, pakastus, pakkasvarastointi, ruisleipä, säilyvyys, raski, entsyymit, mallas, arabinoksyylaani, hydrokolloidi</p>			
<p>Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited</p> <p>Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto, Helda</p>			
<p>Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information</p> <p>EKT-sarja 1848, Julkinen 18.5.2020</p>			

Tiedekunta – Fakultet – Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Laitos – Institution – Department Department of Food and Nutrition	
Tekijä – Författare – Author Anu Hokkanen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Improving the quality and shelf life of frozen rye bread			
Oppiaine – Läroämne – Subject Food Technology (Cereal Technology)			
Työn laji – Arbetets art – Level M. Sc. Thesis		Aika – Datum – Month and year May 2018	Sivumäärä/ Sidoantal – Number of pages 91
Tiivistelmä – Referat – Abstract <p>The literature review of the thesis focused on the most important baking characteristics of rye, the effects of freezing on the quality of the bread, and the ways to improve the quality and storage life of frozen bread. In the experimental part, the aim was to develop a frozen rye bread containing no additives in which the quality damages and deterioration of shelf life caused by the frozen storage could be prevented as much as possible. The market quality of a frozen rye bread is weakened by a white ring due to the transfer of moisture and the sublimation of ice beneath the crust. The aim of the research was to improve the water binding capacity of rye bread by the addition of baking aids.</p> <p>Rye breads were baked according to a simple recipe, with enzyme, malt flour and hydrocolloid substances added. After the baking and four weeks of frozen storage (-18 °C), the measurements of bread weights, volumes and firmnesses and sensory evaluations were performed. Based on the study, the added enzyme was the most effective agent to improve the quality and shelf life of the frozen rye breads. It increased the specific volume, acidity and softness of frozen rye bread. However, the used enzyme increased the weight loss of rye bread significantly by increasing the runniness of the dough. The use of malt flour was not found to improve the quality or the shelf life of frozen rye bread. The hydrocolloid, in turn, reduced weight loss but hardened the structure of rye bread. Only the hydrocolloid addition prevented the formation of the white ring in frozen rye bread.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Rye baking, frozen rye bread, sourdough, enzymes, arabinoxylan, staling, water-binding capacity, shelf life, freezing, hydrocolloid, malt			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited HELDA - The Digital Repository of University of Helsinki			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information EKT-series 1848, Public 18.5.2020			

ESIPUHE

Tämä maisterintutkielma tehtiin Helsingin yliopiston elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksella viljateknologian pääainesuunnassa. Tutkielman valvojana ja ohjaajana toimi yliopistonlehtori Tuula Sontag-Strohm ja toisena ohjaajana lisäksi apulaisprofessori Kati Katina. Tutkimuksen aloitteentekijänä ja rahoittajana toimi Moilas Oy Pieksämäeltä. Tutkimuksen kokeellinen osa suoritettiin Helsingin Viikissä kevätlukukauden 2017 aikana.

Lämpimät kiitokset kaikille tutkimusprosessissa mukana olleille henkilöille. Suuret kiitokset varsinkin Tuula Sontag-Strohmille monista mielenkiintoisista keskusteluista ja arvokkaasta ohjauksesta tutkimuksen aikana. Kiitokset myös Kati Katinalle ja tutkimusteknikko Outi Brinckille saamistani neuvoista ja avusta tutkielman kokeellisen osion aikana.

Erityisesti haluan kiittää lähipiiriäni ja rakasta miestäni Harria, jonka tuki koko tutkielmaprosessin aikana oli korvaamatonta.

Helsingissä toukokuussa 2018

Anu Hokkanen

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ

ABSTRACT

ESIPUHE

1 JOHDANTO.....	6
2 KIRJALLISUUSKATSAUS.....	7
2.1 RUISLEIVONTA	7
2.1.1 Ruis raaka-aineena.....	7
2.1.2 Hapanleivonta	9
2.1.3 Rukiin leivontatekniset ominaisuudet.....	17
Rukiin sisältämät komponentit.....	17
2.1.4 Ruisleivän vanheneminen ja säilyvyys	28
2.2 PAKKASLEIVONTA.....	32
2.2.1 Pakasteleivät	32
Leivän laatu pakastuksessa ja pakkasvarastoinnissa	35
2.2.2 Pakkausmateriaalit.....	43
2.2.3 Pakasteleipien laadun ja säilyvyyden parantaminen.....	45
Entsyymit pakkasleivonnassa.....	45
Hydrokolloidit pakkasleivonnassa	50
2.2.4 Pakkasleivonnan tulevaisuus	52
3 KOKEELLINEN TUTKIMUS	53
3.1 MATERIAALIT JA MENETELMÄT	53
3.1.1 Koemateriaalit.....	53
3.1.2 Menetelmät	54
Ruisraskin ominaisuuksien määrittäminen.....	54
Entsyymimääritykset	56
Koeleivonta	58
Tilastolliset analyysit.....	62
3.2 TULOKSET	63
3.2.1 Ruisraskiin ja entsyymeihin liittyvät tulokset.....	63
Ruisraskin happamuus.....	63
Ruisraskin ja -jauhojen liukoinen pentosaani.....	63
Mallasjauheen ja ksylanaasin vaikutukset ruisjauhon paisuntalukuun	64
Raskin ja ruistaikinoiden hiilidioksidintuotanto	66
3.2.2 Ruisleipien leivontalaatu pakastusta ennen ja sen jälkeen	68
Valkean renkaan esiintyminen ruisleivissä	68
Ruisleipien paino, tilavuus, ominaistilavuus ja tiheys	70
Ruisleipien painohäviö	71
Ruisleipien kovuus	72
Ruisleipien happamuus	73
Ruisleipien aistinvarainen arviointi.....	74
3.3 POHDINTA	75
4 PÄÄTELMÄT.....	79
LÄHDELUETTELO	80
LIITTEET	89

1 JOHDANTO

Tutkimustietoa pakasteruisleivän laadusta ja säilyvyydestä on niukasti. Pakastealtaasta myytävien leipien tuotanto keskittyy tällä hetkellä pääosin gluteenittomaan leivontaan, vaikka mahdollisuuksia laajentaa pakasteleipien tuotantoa olisi runsaasti. Pakasteleivonta voisi kasvattaa ruisleivän kotimaan jakelua ja mahdollistaisi myös viennin ulkomaille.

Ruisleivonnassa hapantaikinan, eli raskin, käyttö on välttämätöntä, jotta ruistaikinan pH laskee muodostaen leivonnalle suotuisat olosuhteet (Salovaara ja Gänzle 1998). Raskilla on taikinan happamoittamisen lisäksi monia muitakin positiivisia ominaisuuksia; se esimerkiksi parantaa taikinan vedensidontakykyä sekä leivän tilavuutta, rakennetta, säilyvyyttä ja aistinvaraisia ominaisuuksia (Hammes ja Gänzle 1998; Corsetti ym. 2000; Arendt ym. 2007). Pakastuksessa ruisleivän laatu kuitenkin heikkenee muiden leipien kaltaisesti varastointiajan kasvaessa. Pakastuksen aikana ruisleivän sisus voi kuivua ja kovettua, ja leivän tilavuus voi pienentyä (Curic ym. 2008; Rosell ja Santos 2010; Ronda ym. 2011). Ruispakasteleipien laadussa on vaihtelua ja kauppalaatua on heikentänyt etenkin pakasteruisleipien varastointiaikana syntyneet laatuvauriot, kuten valkean renkaan muodostuminen leivän kuoren alle. Pakastuksen aiheuttama leivän laadun heikkeneminen johtuu pääosin kosteuden liikkumisesta leivän sisuksesta kohti kuorta ja ulos leivästä.

Veden liikettä leivän sisällä pakastuksen aikana hillitään esimerkiksi kasvattamalla taikinan ja leivän vedensidontakykyä, jonka seurauksena vapaan veden määrä leivän sisällä vähenee. Ruisleivän vedensidontaan vaikuttavat merkittävästi rukiin sisältämät pentosaanit ja erityisesti vesiliukoiset arabinoksylaanit, joiden vedensidontakyky on muita jauhojen komponentteja suurempi. Vedensidonnan kasvattamisen lisäksi arabinoksylaanit parantavat myös leivän tilavuutta ja rakennetta sekä säilyvyyttä (Michniewicz ym. 1992; Courtin ja Delcour 1998; Denli ja Ercan 2001). Liukoisen arabinoksylaanin määrän on tutkittu kasvavan esimerkiksi käyttämällä leivonnassa ksylanaasientsyymejä (Courtin ym. 1999). Ksylanaaseja suurempi keino kasvattaa leivän vedensidontaa ovat kuitenkin hydrokolloidit, joiden suuri vedensidontakyky pehmentää leivän rakennetta ja parantaa sen laatua (Guarda ym. 2004).

Tässä maisterintutkielmassa tavoitteena oli tarkentaa tietämystä pakasteruisleivistä ja löytää keinoja parantaa niiden laatua ja säilyvyyttä. Kokeellisessa osiossa tavoitteena oli tutkia voiko ksylanaasilla, ruismaltaalla tai psylliumilla parantaa pakasteruisleivän rakennetta ja ehkäistä pakkasvarastoinnin aiheuttamia laatuvaurioita, kuten valkean renkaan muodostumista leivän kuoren alle.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 RUISLEIVONTA

2.1.1 Ruis raaka-aineena

Ruis (*Secale cereale* L.) on heinäkasvien (Poaceae) heimoon kuuluva siemenkasvi, jota viljellään pääsääntöisesti Euroopassa. Ruista viljellään ainoastaan n. 0,7 % kokonaisviljan määrästä ja suurimmat rukiin tuottajamaat ovat Saksa, Puola ja Venäjä (FAO 2017). Ruis menestyykin helposti pohjoisilla alueilla, sillä se sietää hyvin kylmää (Schlegel 2013). Ruis on paljassiemenninen, kromosomiluvultaan diploidinen kasvi, joka jaetaan tavallisimmin kevät- ja syysrukiiseen. Koska ruis on ristisiittoinen, on se riippuvainen toisen kasvin hedelmöityksestä. Ruis sekä samaan heimoon kuuluvat vehnä ja ohra muistuttavat rakenteeltaan ja ominaisuuksiltaan toisiaan. Vaikka ruis on genomeiltaan lähellä vehnää, ruisleivän maku ja rakenne eroavat merkittävästi vehnäleivästä. Koska suurin osa ruistuotteista valmistetaan täysjyväisinä, sisältävät ne paljon kuitua, fenolisia yhdisteitä, kivennäisaineita ja vitamiineja.

Suomessa rukiin tuotanto oli vuonna 2015 108 milj. kg, joka riitti kotimaisen kysynnän täyttämiseen (LUKE 2015). Ruista käytetään eniten leipäviljäksi, minkä lisäksi osa menee myös muuhun elintarvikekäyttöön. Ruisleivät valmistetaan Suomessa pääosin täysjyvärukiista, joka sisältää runsaasti terveyttä edistävää ravintokuitua. Ruiskuitu tutkitusti edistää suolen normaalia toimintaa ja Euroopan komissio onkin hyväksynyt väitteen terveysväitteeksi (Euroopan Komissio 2012). Täysjyväviljan on havaittu myös pienentävän monien sairauksien, kuten sydän- ja verisuonitautien, syövän ja tyypin 2 diabeteksen, riskiä (Aune ym. 2016; Chen ym. 2016). Suomalaisten korkea ruisleivän kulutus kasvattaa ravintokuidun saantia ja vaikuttaa tätä kautta terveyteen.

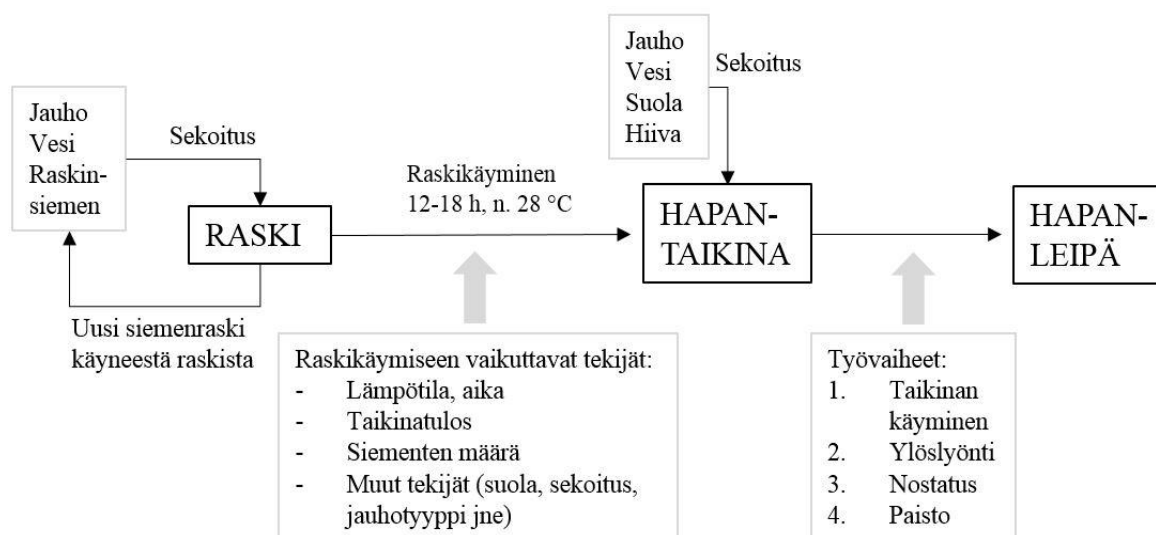
Rukiin säilytyksessä on vaarana jyvän itäminen, sillä riittävän lämpimissä ja kosteissa olosuhteissa jyvien itämisherkkyys on korkea. Tämä johtaa puolestaan liian korkeaan α -amylaasin aktiivisuuteen ja leipomiseen sopimattomaan jauhoon. Rukiin jyvien seassa on muita viljoja enemmän myrkyllisiä *Claviceps purpurea* -sienen infektoimia torajyviä, jotka on tärkeää poistaa muiden jyvien joukosta ennen jauhatusta. Rukiinjyvän jauhaminen on vehnään verrattuna hankalampaa. Tämä johtuu mm. jyvän korkeammasta pentosaanipitoisuudesta, joka vaikeuttaa jauhatusprosessia tekemällä ruisjauhon erittäin hygroskooppiseksi eli kosteutta absorboivaksi (Zwingelberg ja Sarkar 2001). Hygroskooppisuutensa vuoksi ruisjauho paakkuuntuu helposti, mikä tekee siivilöimisestä hankalaa. Ruista jauhetaankin tämän vuoksi matalammassa kosteuspitoisuudessa kuin vehnää. Pentosaanipitoisuuden lisäksi myös jyvän korkea proteiinipitoisuus (yli 12 %)

aiheuttaa jauhatuksessa hankaluuksia ja tuottaa matalampia jauhatussaantoja (Zwingelberg ja Sarkar 2001). Rukiinjyvän rakenteelliset eroavaisuudet, kuten jyvän kapeus ja pienempi koko, vaikeuttavat jyvän jauhamista eri fraktioihin. Tästä syystä Suomessa suositaankin rukiin jauhamista täysjyväjauhoksi. Valssijauhatuksen avulla rukiista voidaan jauhaa lisäksi ruissihtijauhoa ja ruislestyjauhoa. Laatukriteereistä tärkeimmät ovat myllyrukiilla sakoluku ja hehtolitraino eli viljan tilavuuspaino (kg/hl). Hehtolitrainon tulisi olla vähintään 71 kg ja mitä suurempi paino, sitä parempi. Vuonna 2015 88 % rukiin sadosta ylitti hehtolitrainoltaan 71 kg ja keskimääräinen hehtolitraino oli 77,2 kg (Evira 2015).

Nykyään rukiin populaatiolajikkeiden viljelyn rinnalle ovat tulleet hybridiruislajikkeet. Hybridiruis havaittiin ensimmäisen kerran vuonna 1877 Saksassa, mutta sitä on tutkittu 1970-luvulta ja viljelty vasta 1980-luvulta lähtien (Schlegel 2013). Saksassa jopa 60 % ruispeltojen pinta-alasta on nykyään hybridiruisa, kun taas Suomessa hybridiruisa on alettu viljellä myöhemmin, pääosin vasta 2000-luvulla (Tomerius ym. 2008). Hybridilajikkeita tuotetaan tarkkaan valittujen äiti- ja isälinjojen kautta eristettyinä muista lajikkeista, jotta ristipölytystä ei tapahtuisi. Perimältään erilaisten äiti- ja isälinjojen yhdistämisellä uudeksi lajikkeeksi saadaan aikaan ns. heteroosi-ilmiö, joka tuottaa hybridilajikkeelle korkean satoisuuden (jopa 210 %) ja paremman ympäristöön sopeutumisen laajemman geneettisen spektrin vuoksi (Schlegel 2013). Hybridirukiissa on suuremman ja tasaisemman satoisuutensa lisäksi enemmän versoja, suuremmat tähkät ja korkeammat hehtolitrainot sekä sakoluvut. Koska hybridilajikkeen kylvösiemen on ensimmäinen sukupolvi risteytyksen jälkeen, täytyy niiden kylvösiemenet ostaa joka vuosi uudelleen. Vielä ei ole tutkittu, vaikuttaako hybridiruis leivontaan eri tavalla kuin populaatoruis, mutta rakenteellisten eroavaisuuksien, kuten suuremman tähkän ja jyvän koon, vuoksi myös eroavaisuudet leivontakäyttäytymisessä voivat olla hyvinkin mahdollisia. Erityisesti suurempi endospermi viittaisi siihen, että hybridirukiin kuorikerroksia olisi suhteessa vähemmän kuin perinteisillä rukiinjyvillä.

2.1.2 Hapanleivonta

Raskin eli taikinajuuren käyttö leivonnassa on yksi vanhimmista ruokatuotannon bioteknologisista prosesseista. Sen on kuitenkin nykyään suurilta osin korvannut leivinihiivan käyttö. Raski on vettä, ruisjauhoa ja raskinsientä sisältävä mikrobirikas seos, joka maitohappobakteerien ja hiivojen avulla hapattaa ja nostattaa leipää sekä tuottaa hapanleivälle tyypilliset aistinvaraiset ominaisuudet. Raskia käytetään erityisesti ruisleivonnassa, sillä ilman sen pH:ta alentavaa vaikutusta rukiin korkea α -amylaasipitoisuus hajottaisi liikaa tärkkelystä tuottaen huonolaatuista ja taikinaista leipää.



Kuva 1. Hapanleivonnin vaiheet (muokattu lähteestä Salovaara ym. 2017).

Raskin tarkoituksena on nostattaa taikina eli kuohkeuttaa sitä käymisen aikana syntyvän hiilidioksidin avulla ja parantaa rukiin leivontateknologisia ominaisuuksia. Raskin annetaan käydä n. 12-18 tuntia ennen taikinan tekoa, jonka jälkeen aloitetaan hapanleivän valmistus (kuva 1). Raskin olosuhteita, kuten lämpötilaa, aikaa ja jauhojen määrää, muuttamalla on mahdollista vaikuttaa raskin lopputulokseen. Lämpötilan avulla voidaan esimerkiksi suosia tietynlaisia maitohappobakteereja, jotka kasvattavat taikinan happamuutta ja valmiin leivän säilyvyyttä sekä voimistavat aistinvaraisia ominaisuuksia. Aikaa muuttamalla voidaan puolestaan vaikuttaa raskin happamuuteen, sillä tyypillisesti pitkä fermentaatioaika tuottaa happamampia taikinoita (Seibel ja Weipert 2001).

Jauhojen osuuden ja vesi-jauhosuhteen (taikinatulos) kautta muokataan mm. raskin pH:n laskunopeutta, kiinteyttä ja eri happojen muodostumista (Spicher ja Stephan 1999; Chavan ja Chavan 2011). Taikinatulos vaikuttaa merkittävästi raskin makuprofiiliin, sillä matala taikinatulos tuottaa enemmän etikkahappoa ja vähemmän maitohappoa. Korkea taikinatulos nopeuttaa puolestaan happamoitumista todennäköisesti orgaanisten happojen

paremman diffuusion johdosta (Spicher ja Stephan 1999). Jauhojen jauhatustasaste vaikuttaa myös raskin ominaisuuksiin, sillä korkea tuhkapitoisuus voi kiihdyttää raskin mikrobiston aktiivisuutta ja madaltaa pH:ta (Katina ym. 2004). Koska täysjyväruisjauhoissa on korkea jauhatustasaste ja suuremmat pitoisuudet mineraali- ja kivennäisaineita sisältäviä kuorikerroksia, voi metaboliatuotteiden muodostuminen kasvaa fermentoinnin aikana.

Raskikäymistä seurataan pH:n ja happoluvun mittauksilla. Raskin pH kuvaa siinä olevan hapon voimakkuutta ja happoluku raskissa muodostuneiden happojen määrää. Raskitusprosessin aikana raskin pH voi laskea esimerkiksi 6:sta 3,7:ään. Happoluku puolestaan voi kasvaa alun 2:sta jopa arvoon 18. Ruistaikinassa ja -leivässä pH- ja happolukuarvot ovat huomattavasti maltillisempia lisätyn ruisjauhon vuoksi (taulukko 1).

Taulukko 1. Leipien happamuuksien arvoja. (Salovaara ym. 2017)

Leipätyyppi	pH	Happoluku ml	Maitohappoa %	Etikkahappoa %
Voimakkaasti hapan leipä	4,1-4,4	12,0-15,0	0,8-1,0	0,1-0,2
Miedosti hapan leipä	4,5-4,8	8,0-11,0	0,5-0,7	0,05-0,1
Vehnäleipä	5,5-6,0	2,0-4,0	0,1-0,2	0,0

Itse taikinän käymisen aikana jauhoissa ja raskissa luonnollisesti esiintyvät mikro-organismit, kuten maitohappobakteerit ja hiivat, tuottavat aineenvaihduntatuotteita, jotka vaikuttavat taikinän nostatuksen lisäksi positiivisesti myös leivän rakenteeseen, sisukseen, makuun, ravintoarvoon ja säilyvyyteen (Crowley ym. 2002; Thiele ym. 2002; Arendt ym. 2007). Näitä tuotteita ovat mm. orgaaniset hapot, eksopolysakkaridit ja entsyymit. Raskin käyttömäärää muuttamalla säädetään helposti leivän makua ja happamuutta. Mitä suurempi raskin prosentuaalinen osuus taikinassa on, sitä matalampi on pH ja korkeampi kokonaishappoluku (Esteve ym. 1994). Toisaalta liiallinen happamuus pienentää leivän tilavuutta ja pistävän hapanta makua eivät kaikki kuluttajat hyväksy (Salovaara ja Spicher 1987). Hapantaikinän käytön on tutkittu parantavan monia leivän ja taikinän ominaisuuksia (taulukko 2). Leivän tilavuuteen raskin on kuitenkin havaittu vaikuttavan joko tilavuutta suurentaen tai pienentäen riippuen happamoitumisen nopeudesta ja käytetystä mikrobilajikkeesta (Katina 2006a). Aplevicz ym. (2013) havaitsivat, että 4-10 tunnin fermentaatioaika tuotti korkeimman maitohappobakteerien määrän hapantaikinassa ja 6 tunnin fermentaatioaika tilavuuksiltaan suurimmat leivät.

Taulukko 2. Raskin edut ruistaikinassa ja -leivässä.

Raskin edut	Lähteet
Taikinan leivontaominaisuuksien paraneminen	Barber ym. 1992; Arendt ym. 2007
Taikinan vedensidontakyvyn paraneminen	Galal ym. 1978; Hammes ja Gänzle 1998
Leivän rakenteen ja tilavuuden paraneminen	Corsetti ym. 2000; Crowley ym. 2002
Leivän aistinvaraisten ominaisuuksien paraneminen	Thiele ym. 2002; Arendt ym. 2007
Leivän ravitsemuksellisen laadun paraneminen (fytiinihapon määrän lasku, mineraalien hyötyosuuden paraneminen, joidenkin eksopolysakkaridien toimiminen prebiootteina ja aterianjälkeisen veren glukoositason lasku)	Fretzdorff ja Brümmer 1992; Liljeberg ym. 1995; Poutanen ym. 2009
Leivän säilyvyyden paraneminen (uuskiteytymisen hidastuminen ja homeiden kasvun estyminen)	Barber ym. 1992; Rosenquist ja Hansen 1998; Corsetti ym. 1998; Niku-Paavola ym. 1999; Moore ym. 2007; Mihhalevski ym. 2012

Ruisjauhosta valmistetut hapantaikinat jaetaan Böckerin ym. (1995) mukaan kolmeen eri tyyppiin teknologisiin ja mikrobiologisiin näkökulmiin perustuen. Tyypin 1 (perinteiset), 2 (nestemäiset) ja 3 (kuivatut) hapantaikinat eroavat toisistaan pääsääntöisesti rakenteeltaan, fermentointilämpötiloiltaan ja -ajoiltaan, mikrobiaktiivisuuksiltaan ja takaisinraskitususeuksiltaan.

Hapantaikinan mikrobisto

Raskikäymisessä laktobasillit eli maitohappobakteerit tuottavat maitohappo- ja alkoholikäymistä ja hiivat puolestaan hiilidioksidia ja etanolia. Homofermentatiivisista laktobasilleista poiketen heterofermentatiiviset laktobasillit tuottavat taikinaan maitohapon lisäksi myös etikkahappoa, etanolia ja hiilidioksidia. Hapantaikinan mikrobistoon vaikuttavat sekä endogeeniset (mm. jauhojen koostumus ja entsyymit) että eksogeeniset (mm. lämpötila ja pelkistymispotentiaali) tekijät (Hammes ja Gänzle 1998). Fermentaatiolämpötilalla voidaan muuttaa esimerkiksi etikkahapon määrää hapantaikinassa, sillä matala lämpötila (20-25 °C) suosii hiivojen ja etikkahapon määrien kasvua, kun taas korkeassa lämpötilassa (32-38 °C) viihtyvät homofermentatiiviset maitohappobakteerit ja maitohapon määrä hapantaikinassa on tällöin suurempi (Valjakka ym. 2003).

Maitohappobakteerien ja hiivojen välinen suhde on yleensä 100:1. Täysjyväviljassa on määrittelemättömiä bakteereja grammassa n. 10^4 - 10^6 pesäkkeitä muodostavia yksiköitä (pmy/g) ja 10^2 - 10^3 pmy/g maitohappobakteereja (Valjakka ym. 2003). Fermentoituneessa taikinassa maitohappobakteerien määrä voi olla jopa 10^9 pmy/g ja hiivojen määrä 10^7 pmy/g pH:n vaihdella 4,0-4,5 välillä (Salovaara ja Gänzle 1998; Hammes ym. 2005). Maitohappobakteerilajeista varsinkin *Lactobacillus sanfranciscensis*:in, *L. pontis*:in ja *L. plantarum*:in on tutkittu olevan tärkeitä organismeja hapantaikinoissa (Vogel ym. 1999; Valjakka ym. 2003). Gülin ym. (2005) tutkimuksessa eri maitohappobakteereilla havaittiin olevan erilaisia vaikutuksia valmiin leivän aistinvaraisiin ominaisuuksiin ja rakenteeseen. Maitohappobakteerien tuottamat eksopolysakkaridit sitovat vettä taikinaan ja parantavat taikinan konekäsiteltävyyttä. Eksopolysakkaridien on myös tutkittu kasvattavan vehnätaikinan viskositeettiä ja leivän tilavuutta sekä vähentävän kiinteyttä (Di Cagno ym. 2006).

Hiivalajeja on tunnistettu hapantaikinoista kymmenittäin, mutta vain osa vaikuttaa fermentaatioprosessiin merkittävästi. Hiivat voivat olla lähtöisin niin jauhoista kuin leipomon ympäristöstä ja lajit voivat vaihdella fermentaation lämpötilasta ja ajasta riippuen. Erityisesti *Candida humilis* ja *Saccharomyces cerevisiae* voivat vaihdella dominantteina hiivoina lämpötilasta ja lisääntymisajasta riippuen (Meroth ym. 2003). On tutkittu, että varsinkin *C. humilis* ja *L. sanfranciscensis* viihtyvät yhdessä hapantaikinassa. Tämä voi johtua esimerkiksi niiden yhdenmukaisista kasvunopeuksista ja/tai erilaisista sokeriaineenvaihdunnoista, jolloin ne eivät kilpaile samasta energianlähteestä jauhoissa (Stolz ym. 1993; Gänzle ym. 1998). *C. humilis* kuluttaa mielellään glukoosia maltoosin sijaan, jolloin *L. sanfranciscensis* pystyy häiriintymättä kuluttamaan maltoosia aineenvaihdunnassaan (Stolz ym. 1993; Hammes ym. 1996). *C. humilis* on tutkitusti myös happamassa toimiva voimakas kaasuntuottaja (Meroth ym. 2003).

Hapantaikinan happamuus

Ruisleivonnassa pH:n lasku on tärkeää, jotta saavutetaan leivonnalle sopivat olosuhteet (Salovaara ja Gänzle 1998). Happamuus on suurimmaksi osaksi seurausta maitohappokäymisestä muodostuvasta maitohaposta. Etikkahappo puolestaan kasvattaa eniten leivän mikrobiologista säilyvyyttä ja aistinvaraista happamuutta. Hapantaikinan pH vaihtelee hapatusprosessista ja siemenraskista riippuen n. 3,5-5,4 välillä (Valjakka ym. 2003). Happamuus pidentää valmiin hapanleivän säilyvyyttä ja parantaa aistinvaraisia

ominaisuuksia. Happamuus muokkaa erityisesti leivän rakenteesta eniten vastuussa olevia komponentteja, kuten gluteenia, tärkkelystä ja pentosaaneja.

Fermentaation aikana erityisesti jauhojen hiilihydraateissa ja proteiineissa tapahtuu biokemiallisia muutoksia mikrobiston ja viljan luontaisten entsyymien vaikutuksesta. Varsinkin vehnäleivonnassa gluteeniproteiinien on havaittu turpoavan hapon vaikutuksesta ja vaikuttavan leivän rakenteeseen (Zeleny 1947). Proteiinien hajoamista tapahtuu myös jonkin verran entsymaattisen toiminnan seurauksena. Happamuus hydrolysoi myös tärkkelysjyväsiä lisäten taikinan vedensidontakykyä (Hammes ja Gänzle 1998). Alhainen pH vaikuttaa positiivisesti varsinkin pentosaaneihin, sillä niiden liukoisuus- ja turpoamisominaisuudet kasvavat pH:n laskiessa (Hammes ja Gänzle 1998). Pentosaaneista ja niiden liukenevuudesta riippuu suurilta osin mm. ruistaikinan kaasunpidätyskyky. Pentosaanien liukenevuuden paraneminen kasvattaa lisäksi taikinan vedensidontakykyä.

Happamat olosuhteet laskevat joidenkin ruisjauhojen entsyymien, kuten α -amylaasin, aktiivisuuksia. Luonnollisen α -amylaasin aktiivisuuden tulisi olla ruistaikinassa alhainen, jotta leivän rakenteesta tulee hyvä. Joihinkin hapantaikinoihin kuitenkin lisätään sieniperäistä α -amylaasia, joka tuottaa sisukseltaan pehmeämpiä leipiä ja hidastaa leivän rakenteen kovenemisen nopeutta (Corsetti ym. 2000). Osaan entsyymeistä hapot vaikuttavat niiden aktiivisuuksia nostaen.

Taikinassa olevat hapot vaikuttavat voimakkaasti taikinan käyttäytymiseen sekoituksen aikana, sillä happamat taikinat vaativat hieman lyhyemmän sekoitusajan ja pH:n noustessa tarvittava sekoitusaika pitenee (Hoseney 1994). Wehrle ym. (1997) tutkimuksessa leipätaikinaan lisätyt maito- ja etikkahappo tekivät taikinoista kiinteämpiä ja viskoosimpia, mutta vaikuttivat myös negatiivisesti taikinan stabiilisuuteen sekoituksen aikana. Ruistaikinoiden fysikaaliset ominaisuudet paranivat venyvyyden ja kimmoisuuden osalta myös Arendtin ym. (2007) tutkimuksessa happamoitumisen ansiosta. Barberin ym. (1992) tutkimuksen mukaan hapantaikinan lisäys leipätaikinaan tuotti leipiä, joilla oli suurimmat tilavuudet, hyvä rakenne ja hitaimmat vanhenemisnopeudet varastoitaessa. Happamuuden lisääminen happojen kautta ei tutkimuksessa kuitenkaan enää parantanut leipien ominaisuuksia, vaan päinvastoin aiheutti leivän tilavuuden pienenemistä, karkeampaa rakennetta ja nopeampaa vanhenemistä. Raskin tilavuutta kasvattavan vaikutuksen on arveltu johtuvan mm. sen heterofermentatiivisista maitohappobakteereista, jotka kasvattavat hiivan metabolista aktiivisuutta; homofermentatiivisten maitohappobakteerien tuottamasta happamuudesta, joka kasvattaa gluteenin kykyä pidättää hiilidioksidia ja

vesiliukoisten pentosaanien aiheuttamasta veden jakautumisesta (Gobbetti ym. 1995; Corsetti ym. 2000). Varastoinnin aikana tapahtuvaa leivän rakenteen kovenemisen hidastumista hapantaikinan vaikutuksesta ovat tutkineet mm. Corsetti ym. (2000) ja Crowley ym. (2002).

On epäilty, että happamassa ympäristössä proteiinien liukoisuus kasvaa positiivisten nettovarauksien johdosta (Galal ym. 1978). Positiiviset nettovaraukset aiheuttavat intra- ja intermolekulaarista hylkimistä, joka aiheuttaa proteiinimolekyylien kierteiden avautumista ja vedensidontakyvyn kasvamista. Samalla proteiinien rakenne heikkenee. Suolan lisäämisellä pystytään kuitenkin vähentämään happojen vaikutusta sekoitusaikaan ja -stabiliteettiin, sillä suola alentaa vedensidontaa tiivistämällä proteiineja ja estämällä niiden rakenteen avautumista (Galal ym. 1978). Suola parantaa niin maitohappobakteerien kasvua kuin hapon tuottoakin. Simonson ym. (2003) havaitsivat, että NaCl:n matala pitoisuus (0,7 % asti) kiihdytti maitohappobakteerien kasvua, kasvatti kokonaishappolukua (TTA) ja maitohappo- sekä etikkahappokonsentraatioita, mutta korkeammat pitoisuudet puolestaan heikensivät merkittävästi kyseisiä tapahtumia. Tutkimuksessa osoitettiin, että suolalla voidaan hallita hyvin kokonaishappotuotantoa.

Hapantaikinan aistinvaraiset ominaisuudet

Hapantaikina parantaa tutkitusti leipien aistinvaraisia ominaisuuksia (Thiele ym. 2002; Arendt ym. 2007). Ruisleivän koettu aistinvarainen maku riippuu erityisesti haihtuvien yhdisteiden yhteisvaikutuksista ja niiden suhteellisista osuuksista sekä määrittäytyä käytetystä prosessointitekniikasta (Heiniö ym. 2003). Haihtuvien yhdisteiden lisäksi maun muodostukseen vaikuttavat fenoliset yhdisteet, eri makuyhdisteiden esiasteet ja entsyymit. Makuyhdisteitä löytyy jo rukiinjyvistä itsestään, sillä jyvä sisältää mm. alkoholeja, ketoneja ja aldehydejä, jotka paiston aikana tuottavat aromiaineita. Jyvistä löytyy lisäksi makuyhdisteiden esiasteitakin, kuten yksinkertaisia sokereita, rasva- ja aminohappoja ja fenolisia yhdisteitä, jotka muodostavat makuja leivän prosessoinnin aikana (Hansen ym. 1989; Heiniö 2003). Jauhojen jauhatusasteen ja tuhkapitoisuuden sekä fermentaatioajan on tutkittu liittyvän suuresti esimerkiksi hapanvehnäleivän maun voimakkuuteen (Katina ym. 2006). Korkea tuhkapitoisuus lisää esimerkiksi aminohappojen ja haihtuvien yhdisteiden muodostumista ja tehostaa proteolyysiä sekä happamoitumista. Proteolyysin tehostumista kasvattaa varsinkin ruisleivonnassa käytettyjen täysjyväjauhojen korkeampi proteolyttinen aktiivisuus.

Ruisleivän maun muodostumiseen vaikuttavia biokemiallisia reaktioita ovat mm. lipidien hapettuminen, entsymaattiset reaktiot ja kuumennusreaktiot (Hansen ym. 1989). Entsymaattisia reaktioita voi tapahtua sekä fermentoinnin että paiston alun aikana ja reaktion entsyymit voivat olla lähtöisin jauhoista, hiivasta, maitohappobakteereista tai lisäaineista (Heiniö ym. 2003). Fermentaation aikana taikinaan muodostuu myös proteolyysin ansiosta haihtuvien maku- ja aromiyhdisteiden esiasteita (Thiele ym. 2002; Arendt ym. 2007). Rukiinjyvä sisältää runsaasti endoproteaasiaktiivisuutta ja erityisesti aspartyyliproteaseja, jotka hydrolysoivat rukiin proteiineja (varsinkin sekaliineja) ja tuottavat makuyhdisteiden esiasteina toimivia peptidejä sekä aminohappoja (Tuukkanen ym. 2005). Kuumennusreaktioista tärkeimmät ovat Maillard- ja karamellisaatioreaktio, joissa mm. vapaita aminohappoja ja sokereita muokataan eri makuyhdisteiksi, jotka osallistuvat mm. paahdetun, karamellisoidun ja hieman makean maun kehittymiseen. Raskittomassa leivässä paiston aikana muodostuvat makuyhdisteet vaikuttavat pääosin ainoastaan leivän kuoreen, kun taas hapantaikinassa fermentaation aikana muodostuvat makukomponentit havaitaan myös valmiin leivän sisuksessa. Paiston aikana muodostuneita yhdisteitä, jotka syntyvät pääosin kuumennusreaktioista, pidetään yksinä tärkeimmistä ruisleivän maun kannalta.

Maito- ja etikkahapon konsentraatioiden on tutkittu vaikuttavan eniten ruisleivän koettuun happamuuteen (Hellemann ym. 1988). Maitohappoa paljon sisältävän leivän maku on esimerkiksi miedompi verrattuna vahvemman maun tuottavaan etikkahappoon (Valjakka ym. 2003). Tästä syystä etikkahappo on hapantaikinassa usein toivottu happo. Maito- ja etikkahapon suhde riippuu käymisolosuhteista sekä laktobasillien homo- ja heterofermentatiivisuuden suhteesta. Maito- ja etikkahapon haluttu suhde on n. 80:20, sillä suurempi etikkahapon määrä tuottaisi leipään liian terävän happaman maun (Belitz ym. 2004). Simonsonin ym. (2003) tutkimuksessa sakkaroosin lisäyksellä oli merkittävä vaikutus etikkahapon tuotantoon hapantaikinassa. Raskin määrää lisäämällä etikkahapon määrää ei kuitenkaan pystytty aistittavasti lisäämään, vaan silloin kasvaa ainoastaan maitohapon määrä (Esteve ym. 1994). Tämä saattaa johtua etikkahapon herkästä haihtumisesta paiston aikana. Lisättävän raskin määrä, olosuhteet (mm. fermentaatioaika) ja ominaisuudet (mm. mikrobisto) muokkaavat lopullisen ruisleivän aistittavia ominaisuuksia. Hansenin ym. (1989) tutkimuksissa havaittiin esimerkiksi, että homofermentatiivisilla maitohappobakteereilla fermentoitu ruisleipä maistui makealta, miedon happamalta ja kukkaiselta, kun taas heterofermentatiivisen *Lactobacillus brevis* -lajin maitohappobakteerin (L. 62) ruisleipää kuvailtiin maultaan ja aromiltaan

voimakkaimmaksi. Samassa tutkimuksessa todettiin, etteivät kemiallisesti maitohapolla hapatetut ruisleivät maistuneet yhtä happamalta kuin raskin avulla hapatetut ruisleivät ja niistä puuttui myös ruisleivälle ominainen maku.

Hapantaikinan terveyttä edistävät ominaisuudet

Hapantaikina voi vaikuttaa ruisleivän ravitsemukselliseen laatuun muuttamalla eri yhdisteiden pitoisuuksia tai ravintoaineiden biosaatavuutta eli hyötyosuutta (Poutanen ym. 2009). Liisteröitynyt tärkkelys, jota pääosin endospermistä valmistetuissa leivissä on paljon, hajoaa ruoansulatuksessa tyypillisesti nopeasti, mikä johtaa nopeaan veren glukoosipitoisuuden eli glykeemisen indeksin (GI) kasvamiseen. Hapantaikinan on kuitenkin tutkittu alentavan plasman glukoosi- ja insuliinitasoja (Maioli ym. 2008). Maitohappobakteerien ja hiivojen aikaansaaman fermentaation ja pH:n laskun on tutkittu osittain edesauttavan vehnäleivän glykeemisen indeksin laskua korkean kuitupitoisuuden lisäksi (De Angelis ym. 2007). Hapantaikinassa tapahtuva pH:n lasku aiheuttaa lisäksi proteolyysiä tuottaen hapantaikinaan suuria määriä peptidejä ja aminohappoja, joiden osuutta glukoosimetabolian säätelyyn on tutkittu (Nilsson ym. 2007). Liljeberg ym. (1995) havaitsivat leivän sisältämien maitohappojen alentavan aterianjälkeisiä glukoosi- ja insuliinitasoja ja täten parantavan glukoositoleranssia. Kyseisten tulosten oletettiin johtuvan ainakin osittain maitohappojen aiheuttamasta tärkkelyksen hajoamisen hidastumisesta. Osa raskin sisältämien maitohappobakteerien tuottamista eksopolysakkarideista voi myös omata prebioottisia ominaisuuksia ja edistää suoliston terveyttä stimuloimalla mm. bifidobakteerien kasvua (Korakli ym. 2002).

Hapantaikina muokkaa leivän mineraalien ja kivennäisaineiden saatavuutta. Osa jyvän mineraaleista ei esimerkiksi ole elimistön suoraan käytettävissä, vaan sitoutuneena fytaatteihin eli fytiinihapon suoloihin. Vehnä ja ruis sisältävät n. 1 % fytiinihappoa, joka sijaitsee jyvän kuoren aleuronikerroksessa (Fretzdorff ja Brümmer 1992). Tästä syystä fytiinihapon määrä jauhoissa korreloikin sekä tuhkapitoisuuden että jauhatustasteen kanssa ja täysjyvä- sekä ruisleivät sisältävät sitä muita leipiä enemmän. Fytaatit eivät ole hyödynnettävissä sellaisinaan, vaan jopa estävät metalli-ionien, kuten sinkin, kalsiumin ja raudan imeytymistä suolistossa muodostamalla liukenemattoman metallikompleksin eli kelaatin (Pyler ja Gorton 2008). Fytiinihapolla on vaikutusta myös proteiinien sulavuuteen, sillä se muodostaa kompleksin joidenkin proteiinien kanssa hankaloittaen niiden proteolyysiä. Fytiinihapon määrää saadaan kuitenkin vähennettyä mm. jauhatuksen, kypsentämisen, fermentaation ja liotuksen avulla, jonka vuoksi esimerkiksi hapanleivissä sitä on huomattavasti vähemmän kuin hapattamattomissa leivissä (Kumar ym. 2010).

Happamissa olosuhteissa endogeeninen fytaasientsyymi hajottaa fytaatteja pienemmiksi inositolifosfaateiksi, jolloin niihin kiinnittyneitä mineraaleja irtoaa elimistön hyödynnettäväksi. Jotkin inositoli-fosfaattimuodot rajoittavat kuitenkin mineraalien imeytymistä hajotuksen jälkeenkin. Fytaasin optimiolosuhteisiin kuuluu lämpötila 50-55 °C ja pH 5-5,5, johon hapantaikina fermentoituessaan yltää (Fretzdorff ja Brümmer 1992). Fretzdorffin ja Brümmerin (1992) tutkimuksessa osoitettiin, että fytiinihapon hydrolyysille taikinassa tärkeimmät tekijät ovat juurikin pH ja luontainen fytaasiaktiivisuus. Tutkimuksessa todettiin, että pH 4,5 on ihanteellinen happamuus fytiinihapon hydrolyysille vehnä- ja ruistaikinoissa, ja hydrolyysia voidaan nopeuttaa nostamalla lämpötilaa 55 °C:seen saakka. Myös lisäämällä hiivojen tai maitaiden määrää taikinassa vähennetään fytaatin määrää leivässä (Chhabra ja Sidhu 1988).

Huolimatta fytiinihapon taipumuksesta sitoa mineraaleja ja kivennäisaineita, on sillä myös positiivisia vaikutuksia, jotka eivät pääse esille hapanteivonnassa. Fytiinihappo toimii voimakkaana antioksidanttina, joka ehkäisee DNA-vaurioiden syntymistä ja happiradikaalien muodostumista sitomalla mineraaleja (Graf ja Eaton 1990). Rautaa sitomalla fytiinihappo pystyy myös vähentämään suoliston pinnan ja raudan välisen kosketusajan pituutta ja näin pienentää mahdollisesti suolistosyövän riskiä. Useita muitakin terveyttä edistäviä vaikutuksia on havaittu fytiinihappoa ja fytaatteja tutkittaessa (Graf ja Eaton 1990; Kumar ym. 2010).

Fermentaation on tutkittu vaikuttavan mineraalien ja kivennäisaineiden lisäksi myös vitamiinien ja kuitujen pitoisuuksiin. Joidenkin vitamiinien, kuten tiamiinin, riboflaviinin ja B1-vitamiinin, määrien on esimerkiksi raportoitu nousevan fermentaation aikana, kun taas osan (E-vitamiini, tokoferoli ja tokotrienoli) pitoisuudet puolestaan laskevat fermentaatiosta johtuen (Poutanen ym. 2009). Folaattipitoisuus voi nousta fermentoinnissa hiivojen määrän kasvusta johtuen. Hiivojen on tutkittu syntetisoivan folaatteja, minkä lisäksi myös joidenkin maitohappobakteerien on havaittu vaikuttavan folaattipitoisuuteen (Kariluoto ym. 2004). Kuitujen ja kuitujen kaltaisten aineiden (mm. ferulahappo) pitoisuuksien on myös havaittu kasvavan rukiinjyvän kuoriosien fermentoituessa (Poutanen ym. 2009).

2.1.3 Rukiin leivontatekniset ominaisuudet

Rukiin sisältämät komponentit

Rukiinjyvä koostuu eri komponenteista, joihin kuuluvat kuoriosat (10-15 %), tärkkelyspitoinen jauhoidin eli endospermi (80-85 %) ja alkio (2-3 %). Kuoriosat

sisältävät suurimman osan jyvän kuidusta ja mineraaleista, ja endospermi puolestaan koostuu pääosin tärkkelyksestä ja proteiineista. Alkio taas sisältää muita komponentteja enemmän rasvaa. Vehnään verrattuna rukiissa on vähemmän proteiinia ja tärkkelystä, mutta enemmän ravintokuitua (taulukko 3). Määrällisesti eniten rukiinjyvässä on hiilihydraatteja, joihin kuuluvat tärkkelys, kuitu, pentosaanit sekä hemiselluloosat, dekstriinit ja sokerit.

Taulukko 3. Rukiin ja vehnän jyvän keskimääräinen kemiallinen koostumus kuiva-aineesta (%). (Lähteet: Henry 1987; Saini ja Henry 1989; Saastamoinen ym. 1989; Matz 1991; Alais ja Linden 1991; Vinkx ja Delcour 1996; Glitsø ja Knudsen 1999; Khan ja Shewry 2009; USDA Database)

Ravintoaine	Ruis	Vehnä
Proteiini	8-12	10-18
Rasva	1,5-2,7	2
Hiilihydraatti	n. 75	n. 70
josta tärkkelystä	58-62	60-75
Tuhka	1,8	1,4
Kokonaisravintokuitu	15,1-16,5	12
josta liukoista kuitua	3-4	1-2
josta arabinoksyyliaania	6,5-12,2	6-7

Rukiissa on hieman suurempi pitoisuus rasvaa kuin vehnässä ja se sisältää pääsääntöisesti hapettumisreaktioille alttiita tyydyttymättömiä rasvahappoja. Siksi ruisjauhon rasvapitoisuus vaikuttaa myös jauhojen varastointistabiliteettiin. Vaikka rasvan määrä on suhteellisen pieni, voivat vapaat rasvahapot vähentää mm. proteiinien paisumiskykyä ja tärkkelyksen liisteröitymistä (Schulerud 1957). Aminohappokoostumukseltaan ruis on vehnää ja monia muita viljoja parempi (Hoseney 1994; Pyler ja Gorton 2008). Tämä johtuu enimmäkseen lysiinin, arginiinin ja asparagiinin korkeasta pitoisuudesta. Myös B-ryhmän vitamiinien ja tokoferolin määrät ovat vehnään verrattuna hyvät.

Taikinan reologiset ominaisuudet perustuvat mm. tärkkelyksen, proteiinien ja veden monimutkaisiin vuorovaikutuksiin. Vaikka ruis ja vehnä ovat geneettisesti viljoina hyvin lähellä toisiaan, eroavat ne leivonnassa suuresti toisistaan. Rukiin tärkeimmillä rakenneyhdisteillä; tärkkelyksellä, proteiineilla ja pentosaaneilla, on ruisleivontaan tarpeelliset turpoamisominaisuudet veden kanssa sekoittuessaan. Ruis sisältääkin vehnään verrattuna huomattavasti vesiliukoisempia yhdisteitä. Erityisesti ruisjauhojen vedensidontakyky ja taikinan viskositeetti ovat merkityksellisiä ruisleivonnan laadun kannalta (Seibel ja Weipert 2001).

Polysakkaridit

Rukiinjyvän polysakkaridit vaikuttavat merkittävästi ruisleivontaan ja valmiin leivän rakenteeseen ja säilyvyyteen. Ruisleivonnan polysakkarideista tärkeimpiä ovat leivän rakenteen muodostaja ja vanhenemisesta vastaava tärkkelys sekä vedensidontaa kasvattavat pentosaanit (erityisesti arabinoksyalaanit). Rukiin sisältämät kuidut voivat mm. kasvattaa ruisleivän sisuksen kovuutta.

Viljanjyvien kuorikerrokset sisältävät runsaasti kuitua. Kuidun määrä vaikuttaa suuresti esimerkiksi täysjyväruisleivän kosteuspitoisuuteen yhdessä tärkkelyspitoisuuden kanssa (Buksa ym. 2010). Viljojen ravintokuitu jaetaan liukoiseen ja liukenemattomaan kuituun. Liukenemattoman kuidun, kuten selluloosan, on tutkittu edistävän suoliston toimintaa ja vaikuttavan mm. kolesterolin alentamiseen, kylläisyyden tunteeseen sekä verensokerin vaihteluun (Kay 1982). Liukoinen kuitu, kuten liukoiset arabinoksyalaanit ja β -glukaanit, muodostaa puolestaan veden kanssa viskoosin geelin ruoansulatuksen aikana. Selluloosa ja β -glukaani tuovat ylimääräistä vedensidontakapasiteettia taikinaan, mutta samalla häiritsevät taikinan ja leivän sisuksen koossapysyvyyttä (Seibel ja Weipert 2001). Rukiinjyvä sisältää n. 1-2,5 % β -glukaania, mikä on paljon vähemmän kuin kauralla, mutta yli kaksinkertaisesti vehnään verrattuna (Saastamoinen ym. 1989; Ragae ym. 2001).

Tärkkelys

Hiilihydraateista erityisesti tärkkelyksellä on suuri merkitys ruisleivän rakenteen muodostajana. Tärkkelyksen leivontaominaisuudet riippuvat suurimmaksi osaksi sen paiston aikana tapahtuvista reologisista muutoksista, kuten turpoamisesta ja liisteröitymisestä. Tärkkelys on vastuussa erityisesti vedensidonnasta liisteröitymisen aikana ja veden vapauttamisesta myöhemmin paistossa (Seibel ja Weipert 2001). Jauhamisprosessin aikana yleensä noin 10 % tärkkelysjyväsistä vaurioituu ja on sen vuoksi jo leipomisen aikana alttiita α -amylaasin toiminnalle (Stear 1990). Tärkkelyksen korkea amyloosipitoisuus, hyvä turpoamiskapasiteetti sekä suhteellisen korkea liukoisuus ja liisteröitymislämpötila ennustavat myös yhdessä liukoisten pentosaanien kanssa suurempaa täysjyväruisleivän tilavuutta (Buksa ym. 2010). Amyloosipitoisuudeltaan ja turpoamiskapasiteettiltaan korkea sekä molekyylipainoltaan matala tärkkelys on kuitenkin yhdistetty myös suurempaan leivän kuoren kovettumiseen (Buksa ym. 2010).

Rukiin tärkkelys muodostuu kahdesta erityyppisestä polymeeristä; pitkäketjuisesta amyloosista (n. 30 %) ja haaroittuneemmasta amylopektiinistä (n. 70 %). Mihhalevskin ym. (2012) mukaan rukiin ja vehnän amyloosi- ja amylopektiinirakenteet ovat hyvin

samankaltaisia, mutta eroja löytyy esimerkiksi tärkkelyksen fosfolipidiosassa P-NMR-mittausten perusteella. Rukiissa tärkkelysjyväsiä on vehnän ja ohran kaltaisesti kahta eri muotoa; linssimäisiä A-jyväsiä ja monikulmaisia B-jyväsiä. Ruisleivässä tärkkelyksen laatu ja määrä ovat erityisen tärkeitä tekijöitä. Tärkkelyksen laatu vaikuttaa esimerkiksi tärkkelysgeelin viskositeettiin sekä geelin vahvuuteen. Mitä enemmän tärkkelys sisältää amylopektiinia, sitä viskoosimpaa tärkkelysgeeli on, ja mitä enemmän amyloosia, sitä vahvempi tärkkelysgeeli on.

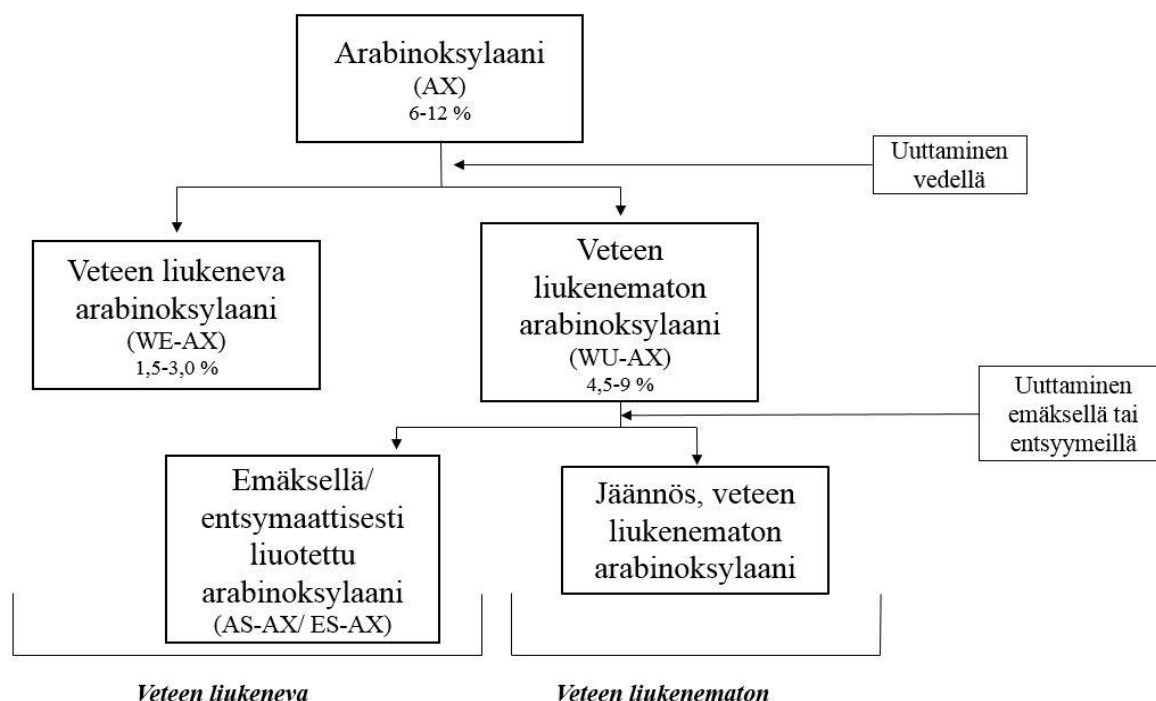
Rukiin tärkkelys liisteröityy suhteellisen alhaisessa lämpötilassa (51-60 °C) verrattuna vehnän tärkkelyksen liisteröitymislämpötilaan (Delcour ja Hoseneý 2010; Schlegel 2013). Siksi rukiin tärkkelyksen entsymaattinen pilkkoutuminen kestää pidempään ja voi heikentää leivän sisusta (Schlegel 2013). Liisteröityminen on peruuttamaton ilmiö, joka tapahtuu, kun tärkkelys-vesi -seosta lämmitetään tietyn lämpötilan yli. Tärkkelysjyvät turpoavat imiessään itseensä vettä, jolloin seoksen viskositeetti kasvaa. Tärkkelys pystyy imemään vettä jopa 30 % sen kuivapainosta. Tärkkelysjyvästen turpoaminen johtaa lopulta tärkkelyksen rakenteen hajoamiseen ja amyloosin valumiseen ulos tärkkelysjyväsistä, mikä tuottaa geelirakenteen. Tärkkelyksen hajotessa seoksen viskositeetti laskee, mutta jäähtyessä kasvaa uudestaan amylopektiinin muodostaessa tiukan geeliverkoston.

Tärkkelyksen liisteröityminen on tärkeä osa leivän rakenteen muodostumista. Osittainen liisteröityminen esimerkiksi synnyttää kalvon leivän pinnalle sitä paistettaessa, mikä auttaa pitämään nostatuksessa tuotetut kaasut leivän sisällä. Liisteröityminen nopeuttaa kuitenkin myös tärkkelyksen hajoamista, joka liian tehokkaana tuottaa kostean ja taikinamaisen sisuksen leivottuun leipään. Tästä syystä myös tärkkelystä pilkkovien α -amylaasien määrää pyritään pienentämään ruisleivän optimaalisten laatuominaisuuksien saavuttamiseksi. Oikea tasapaino liisteröitymisnopeuden ja amylolyyttisen aktiivisuuden välillä on hyvänlaatuisen ruisjauhon perusedellytys (Pyler ja Gorton 2008).

Arabinoksyylaani

Ruis sisältää vehnää suuremman määrän liukoista kuitua ja lähes kaksinkertaisesti pentosaaneja, jyvän soluseinien ei-tärkkelys polysakkarideja (Belitz ym. 2004). Rukiissa suurin osa pentosaaneista on arabinoksyylaaneja, jotka jaetaan vesiliukoisiin ja veteen liukenemattomiin. Arabinoksyylaanien määrä rukiinjyvässä vaihtelee lajikkeesta riippuen 6-12 % välillä, ja veteen liukenemattomia arabinoksyylaaneja on liukenevia enemmän (Shewry ja Bechtel 2001) (kuva 2). Molemmat arabinoksyalaanityypit omaavat hyvin korkean hydraatiokapasiteetin, mutta veteen liukeneva arabinoksyalaani (n. 25-30 %

kokonaisarabinoksyylaaneista) pystyy muodostamaan erittäin voimakkaan viskoosin liuoksen. Kokonaisuudessaan pentosaanit pystyvät sitomaan lähes 30 % taikinan kokonaiskosteudesta (Stear 1990). Veteen liukenemattomat pentosaanit voivat lisäksi muodostaa proteiinin kanssa liukenemattoman geeliverkoston. Suurin osa pentosaaneista sijaitsee jyvän kuorikerroksissa ja loput jyvän endospermissä (Spicher ja Stephan 1999). Endospermissä sijaitsevat pentosaanit ovat vesiliukoisempia kuin kuoressa sijaitsevat.



Kuva 2. Arabinoksyylaanien luokittelu uuttumisen ja liukoisuuden perusteella (muokattu lähteestä Shewry ja Bechtel 2001).

Arabinoksyylaanit ovat ruisleivonnassa tärkkelyksen rinnalla hiilihydraateista tärkeimpiä (Buksa ym. 2010). Ne parantavat vedensidontakykyä, taikinan muodostumisaikaa, kaasunpidätyskykyä ja sekoitusaikaa (Michniewicz ym. 1992; Biliaderis ym. 1995; Denli ja Ercan 2001; Delcour ja Hoseney 2010). Liian suurina pitoisuuksina ne kuitenkin estävät esimerkiksi proteiiniverkoston muodostumista (Döring ym. 2015).

Rukiin arabinoksyylaanit sitovat vettä voimakkaasti vaikuttaen siten taikinan rakenteeseen (Kühn ja Grosch 1989). Ne kasvattavat vedensidontakykynsä ansiosta merkittävästi taikinan viskositeettia, parantavat taikinan käsiteltävyyttä sekä muotoa nostatuksen ja paiston aikana sekä parantavat kaasunpidätyskykyä kasvattamalla kaasukuplia ympäröivien proteiinikalvojen elastisuutta. Erityisesti vesiliukoiset arabinoksyylaanit kasvattavat kaasukuplien ympärillä olevien kalvojen stabiilisuutta ja parantavat näin ollen taikinan vaahtorakennetta (Courtin ja Delcour 2002). Arabinoksyylaanit parantavat lisäksi

leivän tilavuutta ja sisuksen rakennetta sekä vähentävät uuskitetytymistä, jonka vuoksi ne parantavat leivän säilyvyyttä ja varastointistabiilisuutta (Michniewicz ym. 1992; Courtin ja Delcour 1998; Denli ja Ercan 2001). Arabinoksyalaanit voivat kuitenkin kasvattaa ruistaikin pinnan tahmeutta. Taikinakoneiden tukkiutuminen tahmeasta taikinasta voi olla suurikin ongelma ruisleivän tuotannossa. Leivän sisuksen kovuus korreloi myös positiivisesti arabinoksyalaanipitoisuuden kanssa, sillä suuri arabinoksyalaanimäärä merkitsee korkeampaa pitoisuutta sisuksen kovuutta kasvattavaa kuitua (Buksa ym. 2010).

Arabinoksyalaanien vaikutus leivonnassa riippuu niiden molekyylikoosta, rakenteesta, ristosidoksista ja liukoisuudesta. Vesiliukoisten arabinoksyalaanien on tutkittu olevan esimerkiksi enemmän hyödyksi leivän valmistuksessa kuin liukenemattomien arabinoksyalaanien (Courtin ja Delcour 1998). Arabinoksyalaanien rakenne ja varsinkin arabinoosiyksiköiden liittymisen aste vaikuttavat niiden liukoisuuteen ja viskositeettiin (Bengtsson ym. 1992). Arabinoksyalaanit muodostuvat toisiinsa β -(1 \rightarrow 4) glykosididoksilla linkittyneistä lineaarisista D-ksylopyranoosiketjuista, joista joka toiseen ja/tai kolmanteen yksikköön on kiinnittyneenä α -L-arabinofuranoosiyksikkö. Viljojen ksyalaanit sisältävät suuria määriä L-arabinoosia, minkä takia niitä kutsutaankin arabinoksyalaaneiksi (Butt ym. 2008). Ksyalaanit, jotka sisältävät runsaasti sivuryhmiä, ovat vesiliukoisempia ja sitoutuvat heikommin selluloosaan kuin vähemmän sivuryhmiä sisältävät molekyylit (McNeil ym. 1975). Arabinoosi- ja ksyloosiyksiköiden suhde (Ara:Xyl), joka ilmaisee haaroittumisastetta, vaihtelee n. 0,3-1,1 välillä viljalajista ja sijainnista riippuen (Shewry ja Bechtel 2001; Izydorczyk ja Biliaderis 1995). Rukiissa Ara:Xyl suhde vaihtelee yleensä 0,48-0,78 välillä, mutta rukiin vesiliukoisilla arabinoksyalaaneilla suhteen on tutkittu olevan jopa 1,42 (Vinkx ym. 1995; Vinkx ja Delcour 1996).

Izydorczyk ja Biliaderis (1992) tutkivat vesiliukoisia arabinoksyalaaneja ja havaitsivat, että molekyylikoon suurentuessa niiden kyky stabiloida proteiinivaahtoja kuumennuksen aikana kasvoi. Lisäksi suuren molekyylikoon omaavat arabinoksyalaanit osoittivat suurempaa potentiaalia muodostaa kiinteitä ristosiltoja (cross-link) sisältäviä ja suuren vedensidontakyvyn omaavia hydrogeelejä. Ristisilloittuneisuus kasvattaa arabinoksyalaanin molekyylipainoa ja ristosiltoja sisältävät arabinoksyalaanit kykenevät sitomaan runsaasti vettä. Biliaderisin ym. (1995) tutkimuksessa leipä oli myös sitä pehmeämpää, mitä enemmän arabinoksyalaaneja siihen lisättiin. Tämän oletettiin johtuvan sisuksen kosteuspitoisuuden kasvusta. Tutkimuksessa havaittiin lisäksi suuren molekyylipainon omaavien arabinoksyalaanien lisäyksen tuottavan pehmeämmät leivät verrattuna pienen

molekyylipainon omaavien arabinoksyylaaniin lisäykseen. Buksa ym. (2010) havaitsivat puolestaan täysin vastakkaisen ilmiön omassa tutkimuksessaan, jossa erityisesti suuren molekyylipainon omaavat liukoiset pentosaanit tuottivat kovempia leipiä. Tutkimuksen mukaan rakenteen koveneminen voi aiheutua suuresta vedensidonnasta, joka kasvattaa kuoren tärkkelysmolekyylien liikkuvuutta ja on osallisena niiden uuskitetytymiseen.

Proteiinit

Rukiinjyvän kokonaisproteiinipitoisuudesta n. 35 % on albumiineja, 10 % globuliineja, 20 % prolamiineja (sekaliineja) ja 10 % gluteliineja (Hoseney 1994). Muihin viljoihin verrattuna ruis sisältää huomattavasti enemmän vesiliukoisia albumiineja, jotka sisältävät runsaasti mm. välttämätöntä aminohappoa lysiniä. Kun vehnän proteiineista vain n. 10 % on vesiliukoista, rukiin proteiineista jopa 80 % muuttuu vesiliukoiseksi hapantaikinassa (Rohrlich ja Hertel 1966). Rukiissa on lisäksi määrällisesti vähemmän prolamiineja ja enemmän suolaliukoisia globuliineja kuin vehnässä (Pyler ja Gorton 2008).

Merkittävin ero vehnä- ja ruisleivonnassa liittyy viljojen varastoproteiineihin eli prolamiineihin. Vehnän prolamiinit; gliadiini ja gluteniini, ovat gluteeniproteiineja, jotka muodostavat tärkkelyksen ja veden kanssa vehnäleivonnan perustuksen eli gluteenin (sitko). Gluteeni tuottaa vehnätaikinaan vahvan viskoelastisen rakenteen, jonkalaista ei millään muulla viljalla saada aikaan. Rukiin varastoproteiinit eli sekaliinit eivät kykene muodostamaan samanlaista gluteeniverkostoa kuten vehnä, sillä niiden rakenne ja määrä eroavat vehnän prolamiinien rakenteesta ja määrästä. Rukiin gliadiineja vastaavien proteiinien on raportoitu olevan analyttisesti vehnän kanssa samankaltaisia, mutta gluteniineja vastaavien proteiinien fraktion on tutkittu eroavan merkittävästi vehnän gluteniineista (Pyler ja Gorton 2008). Vehnän gluteniiniosa muodostuu sekä suurimolekyylipainoisista (HMW) että pienimolekyylipainoisista (LMW) gluteniineista, joista LMW gluteniineja rukiissa ei ole havaittu esiintyvän. Gluteniinien ja rukiin vastaavan proteiinifraktion eroavaisuuksista johtuen viskoelastisen gluteenin muodostuminen ei ruisleivonnassa onnistu, vaan taikina jää ilman oikeanlaista elastisuutta tuovaa gluteniinia. Vehnätaikinan gluteeniverkosto hidastaa esimerkiksi hiilidioksidin diffuusiota taikinasta, jolloin paistuva taikina ja kaasukuplat muodostavat uunissa laajan rakenteen. Sitkon puutteen takia ruisleivistä ei tule tilavuudeltaan yhtä suuria kuin vehnäleistä. Varastoproteiinien vähyys lisäksi rukiin sitkon muodostusta rajoittaa pentosaanien korkea määrä (Cauvain 2015). Arabinoksyylaanit voivat horjuttaa taikinan rakennetta ympäröimällä proteiineja ja estämällä näin niiden vuorovaikutuksen (Courtin ja Delcour 2002; Döring ym. 2015). Erityisesti korkea arabinoksylaanipitoisuus (yli 5 %),

joka on ruisjauhoille tyypillinen, estää proteiiniverkoston muodostumista (Döring ym. 2015). Proteiiniverkoston vahvuutta voidaan kasvattaa mm. transglutaminaasientsyymien (TG, EC 2.3.2.13) kautta, jonka on havaittu yhdistävän HMW-gluteniineja suuriksi liukenemattomiksi proteiinipolymeereiksi ristisiltojen avulla (Döring ym. 2017).

Hapanleivonnassa tapahtuva proteiinien hajoaminen proteaasientsyymien johdosta tuottaa aromi- ja makuyhdisteiden esiasteita sekä muokkaa taikinan reologiaa ja valmiin leivän rakennetta (Arendt ym. 2007). Aminohappojen muokkausta makuyhdisteiksi voi tapahtua myös leivinhiiivan toimesta taikinan nostatuksen aikana (Thiele ym. 2002).

Entsyymit

Viljat sisältävät runsaasti erilaisia entsyymejä, joilla on omat tehtävänsä jyvän eri kehitysvaiheissa. Viljojen entsyymipitoisuudet voivat vaihdella runsaastikin riippuen kasvuolosuhteista sekä lajikkeesta. Entsyymit aktivoituvat jyvän olosuhteiden, kuten lämpötilan, pH:n ja kosteuspitoisuuden, ollessa optimaaliset, jolloin ne alkavat mm. pilkkoa soluseiniä vaikuttaen monen eri jyvän polysakkaridin toimintaan.

Viljan sisältämät luontaiset entsyymit ovat saaneet yhä suurempaa huomiota ja painoarvoa leivonnassa. Entsyymien, kuten ksylanaasien, proteaasien ja sellulaasien, on tutkittu muokkaavan vehnäleivonnassa gluteeniverkostoa ja sitä kautta parantavan leivän laatua (Gray ja Bemiller 2003). Hapanleivän ravintoarvoa parantavat puolestaan fytaasit pilkkoen mineraaleja sitovia fytaatteja. Ruisleivonnassa merkittävimminä entsyymeinä pidetään kuitenkin tärkkelystä pilkkovia amylaaseja (taulukko 4). Buksa ym. (2010) havaitsivat, että täysjyväruisleivän matalan entsyymaattisen aktiivisuuden aiheuttamaa tilavuuden pienenemistä voidaan korjata esimerkiksi suuremmalla liukoisten pentosaanien pitoisuudella ja niiden sekä tärkkelyksen optimaalisella suhteella (1:16-1:20).

Taulukko 4. Rukiin tärkeimpiä entsyymejä ja niiden toimintoja (Hoseney 1994).

Entsyymi	Toiminta
α -amylaasit	Tärkkelyksen (1 \rightarrow 4)- α -glukosididoksien pilkkominen tärkkelysketjujen keskeltä dekstriineiksi ja maltoosiksi
β -amylaasit	Tärkkelyksen (1 \rightarrow 4)- α -glukosididoksien pilkkominen tärkkelysketjujen ei-pelkistävästä päistä
Ksylanaasi	Arabinoksylaanien (pentosaanien) pilkkominen ksyloosiksi
Proteasit	Proteiinien pilkkominen peptideiksi
Fytaasi	Fytaattien hajotus inositoli-fosfaateiksi
Sellulaasi	Selluloosan pilkkominen D-glukoosiksi
β -glukanaasi	β -glukaanin pilkkominen β -glukaanidekstriineiksi
Lipaasi	Triglyseridien pilkkominen mono- ja diglyserideiksi, glyseroliksi sekä vapaiksi rasvahapoiksi

Ruis sisältää vehnää enemmän α - ja β -amylaaseja eli proteolyttisiä entsyymejä. Rukiin amylaasit pysyvät myös vehnän amylaaseihin verrattuna aktiivisina korkeammissa lämpötiloissa (Schlegel 2013). Tämä voi haitata ruistaikin nousua, sillä jauhojen amylaasit kykenevät pilkkomaan ja samalla rikkomaan ruisleivälle tärkeän polysakkarideista koostuvan rakenteen. Rukiinjyvässä α -amylaasin aktiivisuus kohoaa itämisen aikana, jonka vuoksi itäneitä jyviä ei voi käyttää leivonnassa. Ennen paistoa amylaasit kykenevät pilkkomaan vain vahingoittunutta tärkkelystä, mutta niiden aktiivisuus kasvaa paiston aikana tärkkelyksen liisteröityessä. Liian korkea α -amylaasin aktiivisuus voi aiheuttaa taikinamaisen leivän sisuksen sekä pienentyneen leivän tilavuuden. Jyvien itäneisyyttä ja α -amylaasin aktiivisuutta tutkitaan sakolukumittauksilla.

Endohydrolaattiset α -amylaasit hydrolysoivat tehokkaasti liisteröityneen tärkkelyksen amyloosin ja amylopektiinin (1 \rightarrow 4)- α -sidoksia, mikä pienentää nopeasti tärkkelysmolekyylien kokoa ja samalla tärkkelysseoksen viskositeettia (Hoseney 1994). Koska α -amylaasin aktivoituminen halutaan ruisleivonnassa estää, käytetään apuna raskitaikinaa, joka pienentää taikinan pH:ta. Leivät, jotka sisältävät yli 20 % ruista tarvitsevat yleensä raskia tärkkelyksen pilkkoutumista estämään (Arendt ym. 2007). Rukiin α -amylaasi on yleensä aktiivinen neutraalissa pH:ssa optimaalisen pH:n ollessa n. 5,5. Silloin amylaasit tuottavat mono- ja disakkarideja, joita mm. hiiva kykenee käyttämään ravintona. Raskin käyttö laskee taikinan pH:ta sen verran, että suurin osa α -amylaasista

inaktivoituu. Liian matalaksi α -amylaasin aktiivisuus ei saa laskea, sillä silloin leivän sisuksesta voi tulla kuivempi (Salovaara ja Tuukkanen 2012).

Eksohydrolaattiset β -amylaasit puolestaan hajottavat α -amylaasin tapaan (1 \rightarrow 4)- α -glukosididoksia, mutta keskittyvät tärkkelysketjujen ei-pelkistäviin päihin (non-reducing end), eivätkä pysty hajottamaan tärkkelysketjua keskeltä α -amylaasin kaltaisesti. Yhdessä amylaasit hajottavat tärkkelystä huomattavasti tehokkaammin kuin erikseen, sillä α -amylaasin pilkkoessa tärkkelystä se muodostaa uusia ei-pelkistäviä päitä β -amylaasin pilkottaviksi. Kaikkea tärkkelystä nekin eivät pysty hajottamaan, sillä kumpikaan ei pilko (1 \rightarrow 6)- α -glukosididoksia, joita sijaitsee amylopektiinissä. Amylaasien pilkkomistuotteina syntyy mm. maltoosia, maltotrioosia, glukoosia ja dekstriinejä hiivan ravinnoksi tai Maillard-tyyppisten reaktioiden edistämiseksi.

Vaikka tärkkelyksen ja sitä hajottavien entsyymien vuorovaikutus on ruisleivonnassa merkittävää, on muillakin entsyymeillä omat tehtävänsä. Ruisleivonnassa erityisen tärkeää vedensidontakapasiteettia kontrolloivat pentosaanit, joiden toimintaan vaikuttavat mm. niiden määrä, liukoisuus sekä valmius tulla hajotetuksi pentosanaasientsyymien toimesta. Ksylanaasit sekä muokkaavat liukenemattomia pentosaaneja liukoiksi parantaen vedensidontaa että hajottavat niitä vapauttaen pentosaaneihin sitoutunutta vettä ja pehmentäen tällä tavalla taikinan rakennetta (Dornez ym. 2009). Endogeeniset ksylanaasit ovat viljanjyvälle tärkeitä, sillä ne osallistuvat jyvän kehityksen aikana soluseinien laajenemiseen sekä itämisen aikana niiden hajotukseen. Tärkeimmät arabinoksyylaaneja hajottavat entsyymit ovat endo- β -(1,4)-d-ksylanaasit (EC 3.2.1.8), jotka vaikuttavat voimakkaasti arabinoksylaanien funktionaalisuuden lisäksi niiden molekyyllipainoon sekä liukoisuuteen (Dornez ym. 2009). Ne hydrolysoivat pääketjun sidoksia ja tuottavat ksylo-oligosakkarideja. Ksylaanien arabinoosisivuketjuja hajottaa puolestaan α -L-arabinofuranosidaasientsyymi ja ksylo-oligosakkarideja β -d-ksylosidaasi tuottaen ksyloosimonomeereja (Rasmussen ym. 2001). α -L-arabinofuranosidaasit ovat aktiivisimmillaan 4,2-4,5 pH:n välillä, samoin kuin β -d-ksylosidaasit (pH 4,5) (Rasmussen ym. 2001). Endo- β -(1,4)-d-ksylanaaseilla on puolestaan suurempi aktiivisuusalue (pH 3,8-5,3), mutta huomattavasti alhaisempi aktiivisuus kuin α -L-arabinofuranosidaaseilla ja β -d-ksylosidaaseilla. Endogeenisten ksylanaasien lisäksi jyvät voivat sisältää myös mikrobisia ksylanaaseja, joita tuottavat jyvän pinnoilla sijaitsevat mikro-organismit.

Proteiineja pilkkovat proteolyttiset entsyymit eli proteaasit hydrolysoivat peptididoksia tuottaen kasvin kehitykseen tarvittavia aminohappoja ja peptidejä. Proteaasit jaetaan kahteen luokkaan riippuen peptidaasin pilkkomispaikasta; endopeptidaasit katkaisevat

sidoksia peptidiketjujen keskeltä ja eksopeptidaasit niiden päistä. Endopeptidaaseihin kuuluvat seriini-, kysteiini-, aspartyyli- ja metalloproteinaasit. Lepäävässä jyvässä proteaasiaktiivisuudet ovat vähäisiä, mutta jyvän itäessä ne kasvavat merkittävästi. Rukiinjyvä sisältää runsaasti erilaisia proteolyyttisiä entsyymejä, joista kysteiini- ja aspartyyliproteinaasit ovat aktiivisuuksiltaan suurimmat (Brijs ym. 2002).

Proteaasit ovat jauhoissa substraatista riippuen aktiivisia pH:ssa 4-9 (Wehrle ja Arendt 1988). Vehnäleivonnassa ne voivat vahingoittaa gluteeniverkostoa liian suurella määrällä, mutta niillä on positiivisiakin seurauksia. Proteaasien on tutkittu lisäaineina mm. parantavan leivän säilyvyyttä ja tilavuutta (Corsetti ym. 2000). Proteaasien vuoksi pilkkoutuneet proteiinit kasvattavat lisäksi esimerkiksi haihtuvien makuyhdisteiden muodostumista peptideinä ja aminohappoina.

2.1.4 Ruisleivän vanheneminen ja säilyvyys

Leipomotuotteilla on tyypillisesti melko lyhyt hyllyikä ja niiden laatu on riippuvainen leipomisen ja kulutuksen välisen ajan pituudesta. Leipien vanheneminen aiheuttaa suuria ekonomisia menetyksiä varsinkin leipomoteollisuudelle leipien laadun ehtiessä huonontua ennen kulutusta.

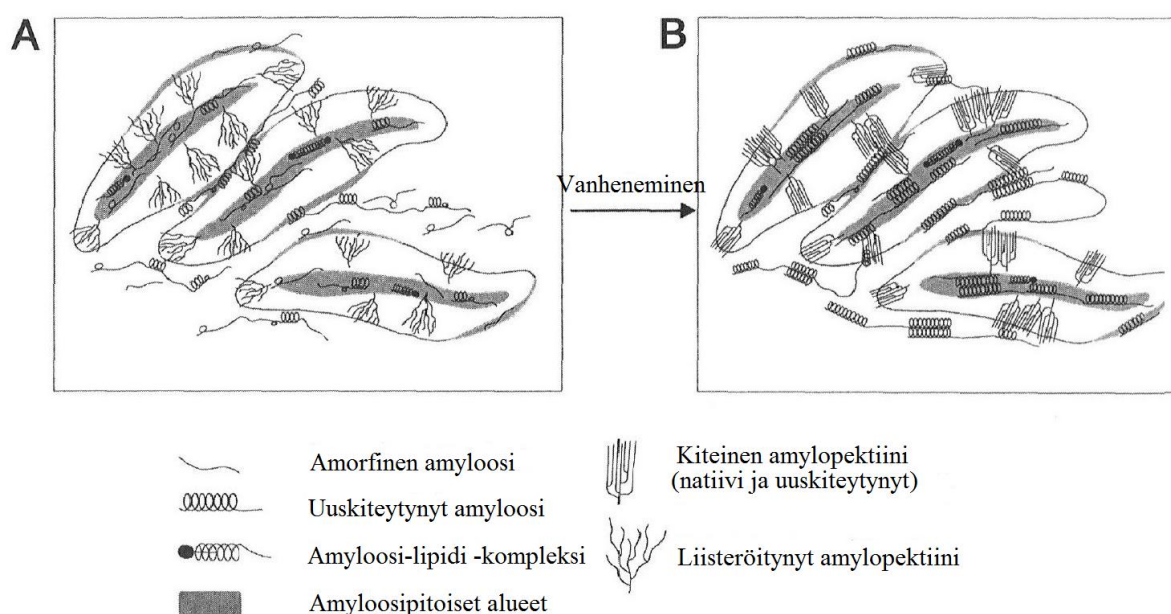
Ruisleivän hyllyikä ja säilyvyys ovat usein muita leipiä parempia happamuudesta johtuen. Alhaisempi pH estää patogeenien toimintaa pidentäen ruisleivän mikrobiologista säilyvyyttä. Esimerkiksi rihmatautia aiheuttavan *Bacillus subtilis* -bakteerin kasvu estyy taikinan ja leivän happamoituessa (Rosenquist ja Hansen 1998). Barberin ym. (1992) tutkimuksessa havaittiin, että lisättäessä 20 % hapantaikinaa leipätaikinaan homeiden kasvu hidastui pidentäen leivän hyllyikää jopa kaksinkertaiseksi verrattuna suoraleivonnalla valmistettuun vehnäleipään. Myös läsnä olevien happojen laatu ja määrä vaikuttavat säilyvyyteen.

Koska yleisin syy leivän mikrobiologiseen pilaantumiseen on homeiden kasvu, on niiden ehkäiseminen tärkeää. Yleisimpiä kontaminaatiovaiheita ruisleivän valmistuksessa ovat valmiin leivän jäähdytys-, viipalointi- sekä pakkausprosessit ja kontaminaatio aiheutuu usein leipomon jauhopölystä. Yleisimpiin pilaajahomeisiin kuuluvat *Aspergillus* ja *Penicillium* -homeet. Maitohappobakteerien on tutkittu vaikuttavan säilyvyyteen esimerkiksi tuottamalla pieniä antimikrobisia yhdisteitä, jotka toimivat luonnollisina säilöntäaineina sienikasvustoja inhiboiden (Niku-Paavola ym. 1999). Pilaantumisen ehkäisy riippuu kuitenkin maitohappobakteerilajista, eivätkä kaikki lajit tuota samanlaisia tuloksia.

Vanheneminen (staling) on yleinen termi leivän ajasta riippuvaiselle maun ja rakenteen laadun heikkenemiselle (Hug-Iten ym. 2003). Siinä tapahtuu esimerkiksi kosteuden siirtymisestä ja tärkkelyksen uuskiteytymisestä johtuvaa sisuksen kovenemista, murenevuutta, kuoren rapeuden vähenemistä sekä maun ja aromin menetystä (Cauvain 1998). Vanhenemisen nopeuteen vaikuttavat mm. leivän koko, kosteuspitoisuus, valmistus- ja pakkausprosessit sekä varastointiolosuhteet. Vanhenemisessä leivän rakennemuutoksia tapahtuu sekä kuorella että sisuksessa ja ne aiheuttavat ajan myötä leivän rakenteen kovenemista ja murenemistä. Rakennemuutoksia aiheuttaa eniten tärkkelysgeelin ominaisuus muuttua hitaasti amorfisesta tilasta kiteiseksi, mitä kutsutaan retrogradaatioksi eli uuskiteytymiseksi. Uuskiteytymiseen liittyy myös vahvasti kosteuden siirtyminen leivän sisuksesta kuoreen. Ruishapanleivällä uuskiteytymisen on tutkittu tapahtuvan

hitaammin kuin vehnäleivällä (Mihhalevski ym. 2012). Hitaampi uskitytyminen voi johtua mm. ruishapantaikinana korkeammasta vedensidontakyvystä ja kosteuspitoisuudesta, erilaisista kiderakenteista tai tärkkelyksen ja proteiinin välisistä vuorovaikutuksista.

Tärkkelyksen osuus leivän vanhenemisessa liittyy tarkemmin amyloosin ja amylopektiinin erilaisiin muutoksiin (kuva 3). Uskitytyminen on lämpötilasta ja ajasta riippuvainen ilmiö, jossa molekyylit uudelleenjärjestäytyvät kiteiseen tilaan (Ronda ja Roos 2008). Paiston aikana lämmön vaikutuksesta tärkkelys liisteröityy ja muuttuu ei-kiteiseksi sitoen itseensä paljon vettä. Kun leipä jäähtyy tai sitä pidetään huoneenlämmössä tarpeeksi kauan, alkavat tärkkelyksen lineaariset molekyylit uudelleenjärjestäytyä kristallirakenteeksi vetysidosten avulla eli kiteytyä. Liisteröityneen tärkkelyksen amyloosista ja amylopektiinistä vain osa (n. 15-30 %) läpikäy muutoksen kiteiseksi, kun taas loput pysyvät amorfisena (Zobel 1988). Amyloosi kiteytyy hyvin nopeasti verrattuna amylopektiiniin, jolla kiteytyminen voi kestää useita päiviä (Miles ym. 1985). Amylopektiinin kiteytymisen arvellaan olevan merkityksellisin vaihe leivän vanhenemisessa, sillä kuten leivän vanheneminen sekin kestää useita päiviä. Koska tärkkelysyyvät ovat lämmön vaikutuksesta rikkoutuneet, on tärkkelys levinnyt leivässä lähes kaikkialle muodostaen kolmiulotteisen verkkorakenteen. Samalla kun amylopektiini kiteytyy, leivän rakenne kiinteytyy. Myös amyloosin ja amylopektiinin suhteen katsotaan vaikuttavan vanhenemisen nopeuteen.



Kuva 3. Leivän vanhenemisen malli tärkkelyksen muutoksiin perustuen. A: Tuoreen leivän sisus, B: Vanhentuneen leivän sisus (muokattu lähteestä Hug-Iten ym. 2003).

Varastoinnin aikana merkittävä määrä tärkkelyksen sisältämää vettä (n. 7,5 % kaikesta leivän sisältämästä vedestä) siirtyy sisuksen amorfisesta faasista kiteisten rakenteiden sisälle kasvattaen osaltaan vanhenneiden leipien kuivaa suutuntumaa (Mihhalevski ym. 2012). Kun vettä sitoneet tärkkelysjyvät kiteytyvät, ne kovenevat, menettävät liukoisuuttaan ja osan sitoneestaan vedestä. Vesi alkaa tällöin siirtyä tärkkelyksestä leivän kuoren proteiineihin (Stear 1990). Mihhalevski ym. (2012) havaitsivat ruishapanleivän tärkkelyksen kiteytyvän eri muodoissa kuin vehnäleivässä. He arvelivat tämän johtuvan tärkkelyksen kiderakenteen sisälle siirtyvän veden määrän eroista vanhenemisen aikana sekä ruis- ja vehnäleipien eri vanhenemisnopeuksista, mikä johtaa tärkkelyksen rakenteen muutoksiin. Ruishapanleivän tärkkelyksen suhteellinen kiteisyys on myös vehnäleipää vähäisempää ja kasvaa hitaammin, mikä voi johtua esimerkiksi tärkkelyksen rakenteen (mm. fosfolipidien tai jyvaskokojen) eroavaisuuksista, proteiinimatriksista, vesipitoisuudesta tai pH:sta (Mihhalevski ym. 2012).

Monet muutkin tekijät kuin tärkkelys vaikuttavat leivän vanhenemiseen. Erilaiset jauhot voivat tuottaa leipiä, jotka vanhenevat eri tahtiin. Tämä pohjautuu pääosin jauhojen erilaisiin pääkomponenttien pitoisuuksiin ja esimerkiksi matalamman proteiinipitoisuuden omaavien jauhojen on epäilty olevan osasyylinen leivän nopeampaan vanhenemiseen (Maleki ym. 1980). Moore ym. (2004) osoittivatkin tutkimuksessaan proteiinifaasin hidastavan uskityymistä. Proteiinien määrä ja laatu vaikuttavat kumpikin vanhenemisprosessiin. Myös hapantaikinan on tutkittu vähentävän tärkkelyksen uskityymistä niin gluteenittomissa, ruis- kuin vehnävehnäleivissäkin (Corsetti ym. 1998; Moore ym. 2007; Mihhalevski ym. 2012). Tietyt maitohappobakteerit kasvattavat leivän hyllyikää ja hidastavat vanhenemistä mm. tuottamalla entsyymejä, jotka voivat muuttaa tärkkelysmolekyylien uskityymisen ominaisuuksia (Corsetti ym. 1998; Gül ym. 2005).

Leivän rakenteen koveneminen vanhenemisen myötä liittyy kosteuden uudelleenjakautumiseen leivän sisältä kuoreen (He ja Hosney 1990). Tuoreen leivän kuori on suhteellisen kuiva ja rapea johtuen tärkkelyksen ja proteiinin lasimaisesta tilasta, mutta leivän vanhetessa vesi siirtyy sisuksesta kuoreen muuttaen sen pehmeäksi ja nahkamaiseksi tärkkelyksen ja proteiinin lasitilan muuttuessa kumitilaksi. Leivän sisus puolestaan on tuoreena hyvin pehmeä, sillä tärkkelys ja proteiini ovat kumitilassa veden suuresta määrästä johtuen. Sisus kuitenkin kovenee ajan myötä veden siirtymisen vuoksi. Czuchajowska ja Pomeranz (1989) havaitsivat, että 168 tunnin varastoinnin aikana kuoren kosteuspitoisuus kasvoi 15 %:sta noin 30 %:iin samalla kun sisuksen kosteuspitoisuus laski

n. 5 %. Kuoren alla olevalta alueelta kosteuspitoisuus kuitenkin laski jopa lähes 15 %, mikä kertoo sen vaikuttavan suuresti kuoren kosteuspitoisuuden nousuun. Leivän kosteuspitoisuus vaikuttaa erityisesti tärkkelyksen kiteytymiseen ja tärkkelysgeelin vesipitoisuuden kautta tärkkelyksen uuskiteytymisen laajuuteen (Zeleznač ja Hoseneý 1986; Eliasson ja Gudmundsson 2006). Leivän kosteuspitoisuuden kasvaessa sen rakenteen kovettumisen on todettu hidastuvan (He ja Hoseneý 1990). Osa vanhenemista hidastavista lisäaineista toimiikin muokkaamalla vapaan veden määrää. Kosteuspitoisuuden muutoksiin liittyy myös leivän sisältämän veden aktiivisuuden (a_w) muutokset. Kun leipä vanhenee, veden aktiivisuus laskee erityisesti kuoren alla olevalta alueelta, mutta kasvaa kuoressa kosteuden siirtyessä sinne (Czuchajowska ja Pomeranz 1989).

Ruisleivän sisältämät pentosaanit voivat hidastaa leivän vanhenemista (Biliaderis ym. 1995). Kim ja D'appolonia (1977) havaitsivat tutkimuksessaan, että pentosaanit hidastavat tärkkelysgeelin uuskiteytymistä vanhenemisen aikana. Erityisesti liukenemattomat pentosaanit hidastivat uuskiteytymisen nopeutta. Vesiliukoiset pentosaanit vaikuttivat Kimin ja D'appolonian mukaan tärkkelyksen amylopektiiniosaan, kun veteen liukenemattomat pentosaanit puolestaan vaikuttivat sekä amyloosiin että amylopektiiniin. Pentosaanien toiminta tutkimuksen perusteella perustui pääosin kiteytyvän tärkkelysosan määrän vähentämiseen ja itse uuskiteytymisen perusmekanismi pysyi muuttumattomana vanhenemisen aikana. Laajemmin vesiliukoisten pentosaanien ja glykoproteiinien on tutkittu toimivan myös siltana hiilihydraattien ja proteiinien välisten fysikaalisten ja kemiallisten sidosten muodostamisessa ja ne ovat suuressa roolissa taikinan vetysidoksien muodostamisessa (Patil ym. 1975).

2.2 PAKKASLEIVONTA

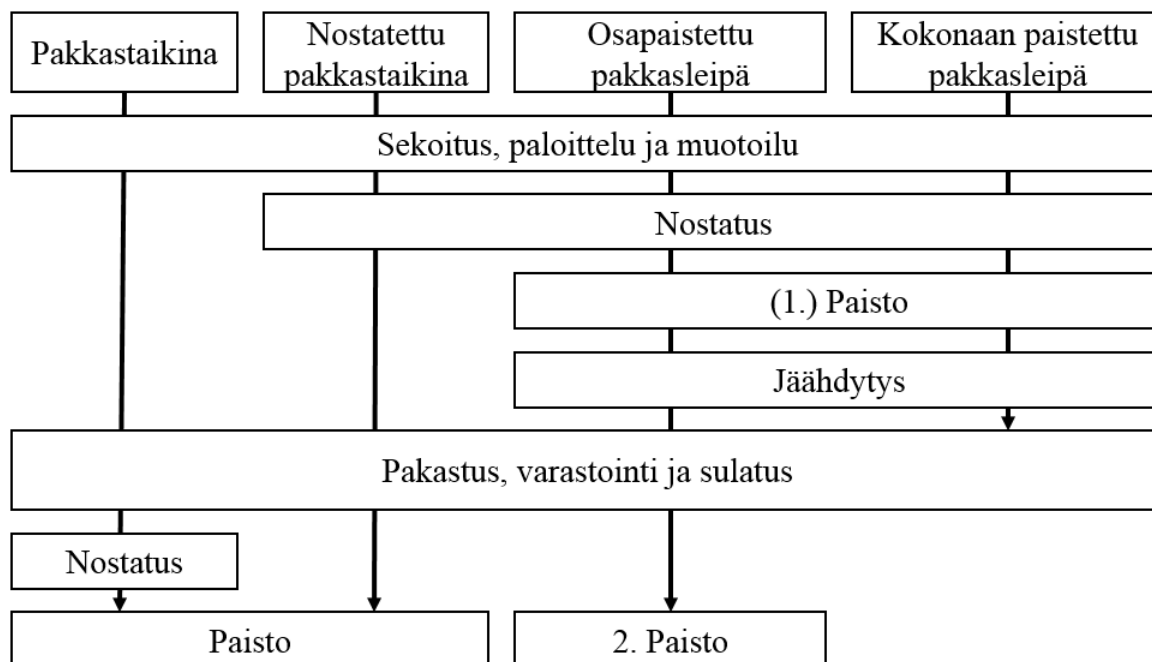
Kaupassa uudelleenpaistettujen pakasteleipien markkinat ovat kasvamassa tasaisesti. Leipien pakastus on antanut yrityksille keinon saada tuoreempia leipiä mm. kauppoihin, hotelleihin, ravintoloihin ja kotitalouksiin. Varsinkin gluteenittomien leipien myynti pakasteena on jo yleinen käytäntö ja keino pidentää niiden hyllyikää. Kun tuotteille halutaan pidempiä varastointiaikoja, vaatii se niiden säilytystä lämpötiloissa, jotka pysäyttävät fysikaalis-kemialliset muutokset (Cauvain 2014). Tällaiset lämpötilat ovat yleensä $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n ympärillä. Esimerkiksi tärkkelyksen uskiteytyminen hidastuu lämpötilan laskiessa alle $0\text{ }^{\circ}\text{C}$:een ja pysähtyy yli $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa. Pakkassäilytys välttää lyhyen hyllyiän tuomat mikrobiologiset riskit ja leivän vanhenemisen. Samalla se kuitenkin tuo mukanaan jäädytys-, varastointi- ja sulatusprosessit, jotka voivat merkittävästi huonontaa leivän laatua väärin suoritettuina. Kosteaa ja huokoista aineen, kuten leivän, pakastamiseen liittyy monia ongelmia. Lämmönsiirto, kosteuden diffuusio sekä veden muutos jääksi vaikuttavat pakastuksessa eniten leivän rakenteen muutoksiin.

Etuja pakasteleipien osalta ovat mm. niiden jatkuva saatavuus, ajan säästö, hygienian paraneminen valmistustiloissa ja kustannusten sekä kuljetuskulujen säästö (Jussila 2014). Saadessaan paistopistetuotteet pakasteina paistamista vaille valmiina kauppojen ei esimerkiksi tarvitse varata leipien alusta asti valmistukselle muuten varattavaa tilaa tai laitteistoja. Pakkastuotteet voidaan valmistaa loppuun niin kaupassa kuin kotonakin ja lopputuloksena on käytännössä yhtä tuore leipä kuin suoraan leipomosta ostettu. Pakasteleipien käytölle löytyy kuitenkin myös negatiivisia puolia, kuten leipien laatuvauriot, suurentuneet energiakustannukset sekä pakkastilojen ja -laitteiden välttämättömyys. Verrattuna perinteiseen leipään osapaistettujen pakasteleipien valmistusprosessi vaatii esimerkiksi yli kaksinkertaisesti enemmän energiaa (Le-Bail ym. 2010).

2.2.1 Pakasteleivät

Pakkasleivonnassa pakastetaan tuotteita leivontaprosessin eri vaiheissa. Jopa nostattamattomia taikinoita pakastetaan jatkoprosessointia varten, mutta leipien osalta pakastetaan eniten joko osittain (par/part/semi/pre-baked) tai kokonaan paistettuja leipiä (full-baked) (kuva 4). Tämä johtuu siitä, että leivän pakastus, varastointi jäätyneessä tilassa ja sulatus on helpompaa kuin taikinan. Pakastuksen jälkeen valmis leipä ei enää tarvitse hiivan aktiivisuutta tai kaasun muodostusta toisin kuin taikina. Taikinat voivat menettää pakastuksessa vahvuuttaan ja rakennettaan sekä hiivasolujen aktiivisuus ja kaasuntuotanto

voi laskea pienentäen valmiin leivän tilavuutta. Koska hiiva ei kestä liian kylmiä lämpötiloja, ei sen nostatuskyky palaudu pakastuksen ja sulatuksen jälkeen. Hiivan pakastuskestävyyttä on kuitenkin pyritty tutkimaan paremmin pakastusta kestäväen hiivatyyppien löytämiseksi. Solunsisäisen trehaloosin eli sienisokerin määrän ja lipidirakenteen on esimerkiksi tutkittu vaikuttavan hiivan pakastuskestävyyteen (Yokoigawa ym. 1995; Murakami ym. 1996). Taikinoina pakastetaankin tyypillisesti lähinnä konditoriatuotteita, jotka ovat pienempikokoisia ja kestävät pakastusta hyvin.



Kuva 4. Eri pakasteleipätuotteiden valmistusvaiheet (muokattu lähteestä Leipätiedotus).

Osapaistettujen leipien tyypillisiin ominaisuuksiin kuuluvat mm. vaaleampi ja ohuempi kuori, sisuksen korkeampi kosteuspitoisuus sekä pienempi tilavuus (Leuschner ym. 1997). Osapaistettujen leivien paistetaan kahdessa osassa, joista ensimmäisessä leipiä paistetaan vain tiettyyn pisteeseen asti. Sen tarkoituksena on paistaa leipä kypsäksi sisältä, mutta jättää paisto kesken ennen kuoren ruskettumista eli Maillard-reaktiota. Samalla hiivan ja entsyymien aktiivisuus on tuhoutunut. Leuschnerin ym. (1997) tutkimuksessa havaittiin, että on erittäin tärkeää paistaa leipä sisältä kypsäksi ensimmäisessä paistossa, sillä lämpötilan nousu toisen paiston aikana on riittämätön kypsentääkseen vielä taikinaista sisusta. Koska osapaistettu leipä paistetaan kahteen otteeseen, tulee taikinaan lisätä enemmän vettä kuin yleensä. Tästä syystä vettä sitovia lisäaineita, kuten hydrokolloideja, käytetään usein osapaistettujen leipien taikinoissa.

Ensimmäisen paiston olosuhteet, kuten paistolämpötila ja -aika, ovat erittäin tärkeitä tekijöitä osapaistetun leivän laadun muodostuksessa. On tutkittu, että suurin osa

varastoidun osapaistetun pakasteleivän rakenneparametreista korreloi merkittävästi ensimmäisen paiston ajan sekä kokonaisuustinvaraisen laadun kanssa (Fik ja Surwka 2002). Koska tärkkelyksen liisteröityminen ja proteiinien koaguloituminen tapahtuvat n. 55-75 °C:n välillä aiheuttaen viskositeetin kasvua, on leipä tässä lämpötilassa vielä kypsymässä ja sen rakenne romahtaa pois otettaessa. Ensimmäisen paiston lämpötila ja aika voivat vaihdella hieman. Kirjallisuus esittelee kaksi menetelmää mahdollisimman vähäisen kuoren ja värin muodostumista varten (Cauvain 2014). Ensimmäisessä leipä paistetaan matalammassa lämpötilassa normaalin ajan verran, jolloin täytyy vähentää uuninousun aikaa tai hiivan määrää, jotta leivän tilavuus ei kasva uunissa liikaa. Toisessa menetelmässä käytetään korkeampaa lämpötilaa jähmettämään leivän rakenne nopeasti ja käytetään näin vähemmän aikaa paistoon. Menetelmä riippuu melko vahvasti tuotteen koosta, sillä suuret tuotteet sopivat paremmin ensimmäisen menetelmän paistoon. Paistolämpötilan tulisi olla tällöin 120-150 °C:n välillä niin pitkään kuin mahdollista ennen kuin kuori alkaa värjäytyä (Cauvain 2014). Fikin ja Surwkan (2002) tutkimuksessa vertailtiin osapaistettujen pakasteleipien eri paistoaikoja ja niiden suhdetta aistinvaraisiin ja fysikaalisiin ominaisuuksiin. Tutkimuksessa saatiin selville, että pakasteleipä, jota oli paistettu 71 % paistojasta, oli varastoinnin, sulatuksen ja loppupaiston jälkeen aistinvaraisilta ominaisuuksiltaan ja reologisilta parametreiltaan stabiilimpi ja laadultaan merkittävästi parempi verrattuna pakastettuun ja sulatettuun kokonaan paistettuun (100 %) verrokkileipään. Tutkimuksessa myös selvisi, että optimaalinen aika ensimmäiselle paistolle on 74-86 % pakastamattoman leivän kokonaan paistamiseen tarvittavasta ajasta.

Toisen paiston tarkoituksena on puolestaan ”elvyttää” leipä ja tuottaa siihen halutunlainen kuori. Tällöin leipä tuntuu hetken vastapaistetun oloiselta. Toisen paiston kesto voi olla melko lyhytkin (mm. 15-20 minuuttia), sillä leivän keskustan lämpötila jatkaa nousua myös uunista pois ottamisen jälkeen (Leuschner ym. 1997). Sisuksen lämpötila voi nousta leivän uunista oton jälkeen useita kymmeniä asteita lämmön siirtyessä leivän pinnalta sisukseen. Toisessa paistossa pakkasvarastoinnin aikana mahdollisesti tapahtunut tärkkelyksen uskityminen voi ”sulaa” tuottaen samanlaiset ominaisuudet kuin tuoreella leivällä (Ronda ym. 2014). Toisen paiston tuottama ruskea kuori ja tuoreen leivän aistinvaraiset ominaisuudet varmistavat tuoreiden leipien tarjonnan mihin aikaan tahansa. Paiston aikana uuninousua ei enää tapahdu, vaan leivän tilavuus voi päinvastoin pienentyä jopa 10 % (Majzoobi ym. 2011; Jussila 2014). Leivästä haihtuu kahdessa paistossa enemmän vettä kuin suoraleivonnassa, jolloin sen hyllyikä on lyhyempi. Osapaistettujen

pakasteleipien tyypillisimpiä laatuvirheitä ovat mm. kuoren irtoaminen ja rypistyminen (Jussila 2014).

Kokonaan paistetut leivät nimensä mukaisesti paistetaan kokonaan ennen pakastusta. Tällöin leivässä on ehtinyt paiston aikana tapahtua Maillard-reaktio ja se on saanut värin ja rakenteen kuoreensa. Pakastettu leipä on sulatuksen jälkeen jo syötäväksi valmis, mutta sitä voidaan lämmittää joko uunissa, mikrossa tai leivänpaahtimessa parempien aistinvaraisten ominaisuuksien sekä pehmeämmän sisuksen aikaansaamiseksi.

Leivän laatu pakastuksessa ja pakkasvarastoinnissa

Pakastus auttaa pidentämään leipomotuotteiden varastoitavuutta ja hidastamaan leivän vanhenemista. Pakastus voi kuitenkin heikentää leivän laatua ja vahingoittaa leivän rakennetta (Bárcenas ja Rosell 2006; Selomulyo ja Zhou 2007). Tilavuuksiltaan suurilla leivillä laatuongelmia syntyy varsinkin liian hitaista pakastus- ja sulamisnopeuksista johtuen.

Leivän laatu pakkasvarastoinnin aikana

Pakastetuotteiden varastointiolosuhteet on tärkeää ottaa huomioon tuotteen varastointiaikaa päätettäessä. Lämpötila on suurin muuttuva tekijä varastoinnin aikana ja se vaikuttaa myös eniten tuotteen laatuun pakastuksen jälkeen. William-Lander-Ferry (WFL) yhtälön mukaan lämpötilan heilahtelu kolmen asteen verran vähentää pakasteruokien hyllyikää 12 kuukaudesta alle 10 kuukauteen (Roos ja Drusch 2016). Viiden asteen lämpötilan heilahtelu puolestaan laskee hyllyikää alle neljään kuukauteen. Leipomotuotteiden säilytyslämpötilaksi suositellaan yli -18 °C :n lämpötilaa, jos tavoitteena on useamman kuukauden varastointi ennen tuotteen käyttöönottoa. Pakastetun leivän varastointi sen lasisiirtymälämpötilaa (T_g) kylmemmässä lämpötilassa estää leivän vanhenemista ja pidentää varastoinnin kestoa (Cauvain ja Young 2008). Lasisiirtymälämpötilaa korkeammassa lämpötilassa leivän kosteutta voi haihtua ympärillä olevaan ilmaan ja johtaa kosteuspitoisuuden laskuun ja leivän T_g :n muuttumiseen.

Pakastettujen leipien varastointiaika on yleensä useita kuukausia jopa vuoteen asti. Tänä aikana leivän ominaisuudet muuttuvat verrattuna tuoreeseen leipään. Räsänen ym. (1997) mukaan suurin muutos tapahtuu silti ensimmäisen varastointiviikon aikana. Pakastus ja siitä aiheutuva jääkiteiden muodostuminen vaikuttaa mm. uuskitetyymiseen ja tärkkelykseen sekä sitä kautta sisuksen rakenteeseen ja sen kovenemiseen (Bárcenas ja Rosell 2006). Jääkiteiden muodostuminen leivän rakenteeseen on tärkein laatua huonontava tekijä leivän pakastuksessa, mikä johtaa osaltaan leivän rakenteen kuivumiseen

(taulukko 5). Vulcevicin ym. (2004) tutkimuksessa kuoren ja sisuksen kosteuspitoisuuden, elastisuuden ja suuntuntuman todettiin olevan erityisen herkkiä laatuominaisuuksia, jotka heikentyivät merkittävästi osapaistettujen leipien neljän viikon varastointiajan jälkeen. Pakastusajan kasvaessa leivän laatu heikkenee mm. kosteuspitoisuuden pienenemisen ja sisuksen kovuuden kasvamisen kautta. Erityisesti pakkaamattomat pakasteleivät osoittavat hyvin voimakasta kuivumista muutaman ensimmäisen viikon aikana pakkasvarastojen matalan suhteellisen kosteuden (RH) vuoksi (Stear 1990).

Taulukko 5. Pakastuksen haitat leivän laadussa, haittojen aiheuttajat ja mahdolliset ratkaisut.

Pakastuksen haitat leivässä	Aiheuttajat	Ratkaisut
Sisuksen koveneminen	<ul style="list-style-type: none"> - Jääkiteiden kasvu - Tärkkelysjyvästen rikkoutuminen - Uuskiteytyminen - Kosteuspitoisuuden pieneneminen - Proteiiniverkoston vahingoittuminen 	<ul style="list-style-type: none"> - Pakkasvarastointiajan ja -lämpötilan optimointi (liian pitkän varastointiajan ja lämpötilavaihteluiden välttäminen) - Vapaan veden määrän pienentäminen
Sisuksen kuivuminen	<ul style="list-style-type: none"> - Veden migraatio ja jään sublimoituminen - Suuret kosteuspitoisuuden erot leivän eri osissa 	<ul style="list-style-type: none"> - Kosteuspitoisuuden erojen vähentäminen leivän sisällä
<ul style="list-style-type: none"> • Valkea rengas kuoren alla 	<ul style="list-style-type: none"> - Veden migraatio leivän sisuksesta kuoren alle - Jään sublimoituminen ulos leivästä 	<ul style="list-style-type: none"> - Leivän varastointi mahdollisimman kylmässä (yli -18 °C) liian pitkää varastointiaikaa välttäen - Leivän nopea pakastus - Kosteuden siirtymistä ehkäisevä pakkausmateriaali ja tiiviisti pakkaus
Tilavuuden ja massan pieneneminen sekä rakenteen kutistuminen	<ul style="list-style-type: none"> - Jääkiteiden aiheuttama tärkkelysjyvästen & proteiiniverkoston vahingoittuminen - Kuivuminen 	<ul style="list-style-type: none"> - Entsyymien käyttö - Optimoidut prosessiolosuhteet (mm. jäädytyksen ja pakastuksen nopeudet)
Lyhyt hyllyikä sulatuksen jälkeen	<ul style="list-style-type: none"> - Veden haihtuminen varastoinnin aikana - Kuivuminen 	<ul style="list-style-type: none"> - Vapaan veden määrän vähentäminen leivässä → mm. vettä sitovilla aineilla
Kuoren murenevuus ja irtominen sisuksesta	<ul style="list-style-type: none"> - Voimakkaat kosteuspitoisuuksien erot leivän kuoren ja sisuksen välillä - Jääkiteiden kasvu kuoren alla 	<ul style="list-style-type: none"> - Kosteuspitoisuuksien erojen vähentäminen leivän sisuksen ja kuoren välillä (kuoren rapeuden vähentäminen) - Leipien viilennys suuremmassa ilmakehässä

Taikinan ainesosilla on tärkeä rooli pakastetun leivän käyttäytymisessä eri leivontaprosesseissa. Lisäaineilla kasvatetaan taikinan stabiilisuutta ja parannetaan

pakasteleivän aistinvaraisia ominaisuuksia. Taikinan ja leivän ainesosista vesi on kuitenkin tärkein pakastuksessa, sillä siitä muodostuvat jääkiteet vaikuttavat eniten pakasteleivän laatuun. Pakastaminen muuttaa veden leivän aktiivisesta ainesosasta inaktiiviseksi, mikä yhdessä matalan lämpötilan kanssa hidastaa mikrobikasvua sekä entsyymaattisia ja kemiallisia reaktioita (Bárcenas ja Rosell 2006). Kun lämpötila laskee alle 0 °C:n, leivässä oleva vapaa vesi muodostaa jääkiteitä, jotka voivat kasvaa ja aiheuttaa vahinkoa leivän rakenteelle. Jääkiteiden kasvu tapahtuu yleensä tasaisessa lämpötilassa, mutta lämpötilan muutokset voivat kiihdyttää sitä huomattavasti. Jääkiteiden koon kasvaessa niiden lukumäärä pienenee pienten jääkiteiden yhdistyessä yhä suuremmiksi kokonaisuuksiksi. Jääkiteiden kasvu on jyrkempää varsinkin osapaistetuilla pakasteleivillä, jonka vuoksi niiden säilytysajaksi pakastimessa suositellaan enintään kahdesta viiteen kuukautta (Vulicevic ym. 2004; Majzoobi ym. 2011).

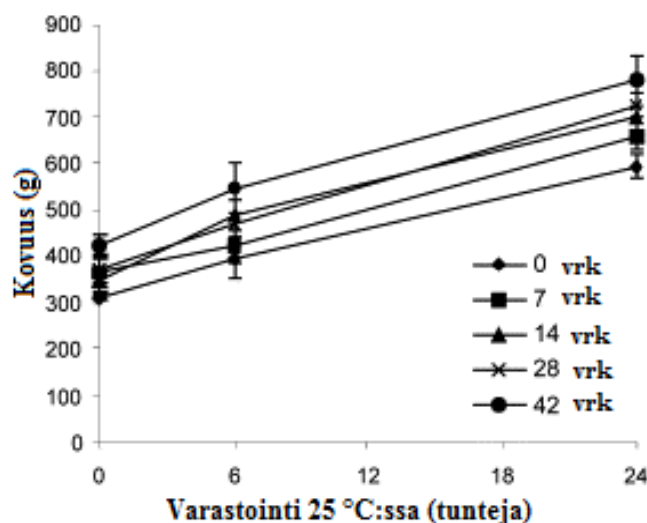
Rondan ym. (2011) tutkimuksessa vertailtiin osapaistettujen ja kokonaan paistettujen leipien pakastuksen vaikutusta mm. veden käyttäytymiseen ja havaittiin, että osapaistettujen leipien kuoren kosteuspitoisuus laski viikon pakastuksen aikaisesta 14 %:sta 7,5 %:iin kuuden kuukauden pakastuksen aikana. Kokonaan paistettujen leipien kuoren kosteuspitoisuus pysyi puolestaan muuttumattomana n. 16 %:ssa koko pakastuksen ajan, mutta sisuksen kosteuspitoisuus väheni merkittävästi. Osapaistettujen pakasteleipien sisuksen kosteuspitoisuus ei näyttänyt tutkimuksessa muuttuvan samoin kuin kokonaan paistettujen leipien sisuksen kosteuspitoisuus.

Veden haihtuminen kuoresta ympäristöön johtuu esimerkiksi jään sublimoitumisesta. Rondan ym. (2011) tutkimuksessa nähtiin, että leivän sisuksen jäätyneen veden määrään vaikutti molemmilla pakasteleipätyypeillä varastoinnin aika. Leipien jäätyneen veden määrä kasvoi varastoinnin aikana 92 päivään asti, jonka jälkeen se alkoi laskea merkittävästi 188 päivään asti johtuen esimerkiksi jääkiteiden sublimoitumisesta. Pakasteleipien kosteuspitoisuus ja kosteuden jakautuminen leivässä ovat veden migraation ja sublimoitumisen vuoksi merkittäviä laatuun vaikuttavia tekijöitä. Mitä suurempi sisuksen ja kuoren välinen kosteuspitoisuus on, sitä nopeammin tapahtuu veden siirtyminen. Migraation nopeuteen ei vaikuta ainoastaan kuoren ja sisuksen välinen kosteuspitoisuus, vaan myös muut leivän ainesosat.

Pakastetuissa leivissä on huomattu tapahtuvan varastoinnin aikana sisuksen kovenemista. Jääkiteiden muodostuminen rikkoo tärkkelysjyvän rakennetta ja mahdollistaa amyloosin vuotamisen ulos solusta. Tämä kasvattaa jyvän sisäisen ja ulkoisen amyloosin

vuorovaikutuksia ja edistää amyloosiverkoston muodostumista, mikä puolestaan kasvattaa leivän sisuksen kovuutta (Bárcenas ja Rosell 2006). Jääkiteet vaikuttavat myös proteiiniverkostoon, joka osallistuu leivän rakenteen muodostukseen. Proteiiniverkoston vahingoittuminen jään vuoksi voi myös kasvaa leivän sulatuksen ja paistamisen yhteydessä. Curicin ym. (2008) tutkimuksessa pakastuksen ja sulatuksen havaittiinkin kasvattavan sekä kuoren että sisuksen kovuutta huolimatta siitä oliko leipä osittain vai kokonaan paistettu. Jääkiteiden negatiivisia vaikutuksia hallitaan esimerkiksi leivän vesipitoisuutta pienentämällä tai hydrokolloideja lisäämällä (Räsänen ym. 1997; Räsänen 1998).

Bárcenas ym. (2003) tutkivat DSC-kalorimetrillä amylopektiinin muutoksia leivontaprosessin aikana. Amylopektiinin uskityymistä ei havaittu osapaistettujen vehnäleipien pakkasvarastoinnin aikana, mutta pakkasvarastoinnin aika kasvatti amylopektiinin uskityymisen lämpötilaväliä. Lämpötilavälin kasvun vuoksi tarvittiin suuri määrä energiaa sulattamaan amylopektiini varastoinnin jälkeen. Tämä puolestaan viittaa amylopektiinin rakenteellisiin muutoksiin pakkasvarastoinnin aikana. Samassa tutkimuksessa saatiin selville, että valmiiden leipien sisusten koveneminen sekä kovenemisnopeus vanhenemisen aikana kasvavat merkittävästi pakkasvarastoinnin keston pidentyessä (kuva 5).



Kuva 5. Osapaistettujen vehnäleipien eri pituisten pakastusaikojen (sis. osapaisto, pakastus, eri aikojen pakkasvarastointi, sulatus ja uudelleenpaisto) vaikutus sisuksen kovuuteen (vanhenemisen aikana) 25 °C:n lämpötilassa. (Bárcenas ym. 2003).

Pakkasvarastoinnin aiheuttamasta tilavuuden pienenemisestä on julkaistu joitakin tutkimuksia, mutta on myös tutkimuksia, jotka kiistävät kyseisen ilmiön. Ilmiötä on perusteltu esimerkiksi veden kiteytymisestä johtuvalla leivän rakenteen vahingoittumisella. Majzoobin ym. (2011) tutkimuksessa pakastettujen osapaistettujen leipien spesifinen

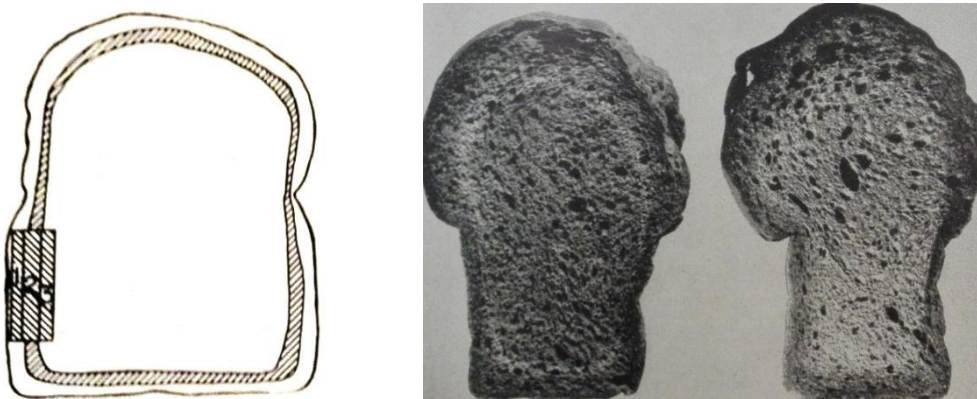
tilavuus pieneni kahden kuukauden varastointiajan jälkeen johtuen mahdollisesti jääkiteiden muodostumisesta ja kasvusta. Jääkiteet voivat vahingoittaa tärkkelysjyväsiä sekä gluteeniverkostoa aiheuttaen tilavuuden pienenemistä. Koska osapaistettut pakasteleivät sisältävät enemmän vettä kuin kokonaan paistettut pakasteleivät, vaikuttavat niihin myös jääkiteiden kasvu voimakkaammin. Curicin ym. (2008) tutkimuksessa havaittiinkin, ettei pakkasvarastointi vaikuta kokonaan paistettujen pakasteleipien tilavuuteen läheskään yhtä paljon kuin osapaistettujen pakasteleipien tilavuuteen. Myös Rosell ja Santos (2010) havaitsivat leipien tilavuuden pienenemistä varsinkin kuukauden pakastussäilytyksen jälkeen. Joissain tutkimuksissa, kuten Bárcenasin ym. (2003), tilavuuden pienenemistä ei kuitenkaan havaittu pakkasvarastoinnin yhteydessä. Hapantaikinan käyttö pakasteleivissä parantaa pakkaskestävyyttä ja mahdollisesti ehkäisee tilavuuden pienenemistä. Novotnin ym. (2012) tutkimuksessa selvisi, että 15 % ja 22,5 % hapantaikinan lisäys vaikutti positiivisesti osapaistetun gluteenittoman pakasteleivän ominaistilavuuteen ja sisuksen kiinteyteen.

Kuoren mureneminen on tyypillinen osapaistettujen pakasteleipien laatuongelma, jossa kuoresta voi irrota erilleen osia. Sitä aiheuttaa esimerkiksi jään muodostuminen kuoren alle pakastuksen aikana. Myös leivässä pakastuksen aikana tapahtuva kaasujen jäähtyminen voi aiheuttaa vetovoimia leivän rakenteen sisällä ja tehdä sen herkemmäksi mm. kuljetuksessa aiheutuville mekaanisille iskuille (Lucas ym. 2005). Murenemista voi yrittää estää esimerkiksi nostamalla suhteellista kosteutta (90-95 %) esiviilennyksen aikana, tuottamalla höyryä paiston alussa sekä jäähdyttämällä leipää ensin huoneenlämmössä tarpeeksi viileäksi (keskilämpö vähintään 35 °C) ennen pakastusta (Le Bail ym. 2005). Koska rapeakuorisilla leivillä on suurempi kosteuspitoisuuksien ero sisuksen ja kuoren välillä, myös niiden jäätyamisen, sulamisen, kutistumisen ja paisumisen tahdit eroavat toisistaan.

Pakastaminen voi muuttaa leivän maun voimakkuutta. Curic ym. (2008) havaitsivat tutkimuksessaan pakastuksen vähentävän kokonaan paistetun leivän suolaisuuden aistimusta ja kasvattavan makean aistimusta. Tutkimuksen kohteena oli kuitenkin vehnäleipä, joten ruishapanleipää tutkittaessa tulokset voivat erota paljonkin kyseisen tutkimuksen tuloksista.

Leivän pakastuksessa voi ilmaantua joskus valkea rengas leivän kuoren alle (kuva 6). Samanlainen ilmiö (freezer burn) on havaittu myös pakastetuilla lihatuotteilla, jonka vuoksi syntymekanisminä epäillään samankaltaista syytä. Lihassa renkaan uskotaan olevan seurausta pinnan kuivumisesta jään sublimoituessa kudoksista ilmaan (Pence ym.

1958). Kudoksiin jäävät pienet aukot heijastavat enemmän valoa aiheuttaen läpikuultavuuden kasvamista.



Kuva 6. Vasemmalla leipäviipaleen se alue, johon valkea rengas ilmestyy; alueelta 2 siirtyy kosteutta alueelle 1, mutta alueella 3 ei merkittävää kosteuden siirtymistä tapahdu. Oikealla kuva valkeasta renkaasta leivässä (muokattu lähteestä Pence ym. 1958).

Pencen ym. (1958) tutkimuksen mukaan rengas voi johtua kosteuden siirtymisestä diffuusion ja sublimaation kautta sisuksesta pienemmän kosteuspitoisuuden sisältävään alueeseen kuoren alla ja sieltä pois. He havaitsivat valkean renkaan alueella useita ilmatäytteisiä aukkoja, jotka sijaitsivat melkein kokonaan tärkkelysjuvästen sisällä. Kosteus pyrkii tyypillisesti liikkumaan tyhjiin aukkoihin pakastuksen aikana, joten kosteuden siirtyessä leivän sisuksesta kuorta kohti se voi kerääntyä juurikin näihin tyhjiin tärkkelysjuvästen synnyttämiin aukkoihin ja kasvattaa jääkiteiden kokoa siellä (Da-Wen Sun 2012). Normaalissa leivän sisuksessa tällaisia aukkoja ei löydy montaa, jonka vuoksi niiden oletettiin johtuvan jääkiteiden kasvusta ja sublimaatiosta pois aukosta. Aukot vaikuttivat valon hajontaan muodostaen vaaleamman alueen leivän pintaan.

Valkea rengas -ilmiötä esiintyy erityisesti epäsopivien varastointiolosuhteiden seurauksena, sillä $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa säilytettyihin leipiin voi ilmestyä renkaat jo kahden viikon säilytyksen jälkeen, kun $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa säilytettyihin leipiin renkaat ilmestyvät tyypillisesti vasta 10 viikon jälkeen. Renkaiden muodostumista ehkäistään säilyttämällä pakasteleipiä mahdollisimman kylmässä, kuten yli $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa ja välttämällä liian pitkää säilytysaikaa. Leveät valkoiset renkaat kertovat, että leivästä on haihtunut runsaasti kosteutta varastoinnin aikana esimerkiksi epäsopivan pakkauksen vuoksi ja renkaiden ulkopuolella olevat leveät läpikuultavat alueet viittaavat puolestaan siihen, että leivät ovat olleet havaittavasti vanhoja jo ennen pakastusta (Pence ym. 1958). Pencen ym. (1958) suorittamassa tutkimuksessa gluteenin ja liukoisten proteiinien lisääminen leipätaikinaan viivästytti valkoisen renkaan syntyä muutaman päivän $-9,5\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa.

Valkean renkaan syntymistä voi kiihdyttää myös pakasteleivän veden faasimuutos kumitilaan. Amorfisessa tuotteessa vesi toimii pehmittimenä, jolloin se sisältää samoja ominaisuuksia kuin muut polymeerit. Tämä tarkoittaa, että se kykenee myös faasimuutoksiin (lasi-, kumi- ja sulanut tila). Pieni lämpötilamuutos veden tietyssä painofraktiossa voi aiheuttaa faasimuutoksen lasitilasta kumitilaan pakkastuotteissa (Morris 2011). Samalla veden liikkuvuus kasvaa ja aiheuttaa tuotteen laadun heikkenemistä. On havaittu, että jatkuva faasimuutos kumitilaan tuotteen ollessa näennäisesti jäätyneenä voi aiheuttaa freezer burn -ilmiötä sekä kasvattaa tuotteen värin ja laadun heikkenemistä. Leivän vesifaasin konsentraatio voi myös kasvaa pakastuksen aikana ja sen jäätymispiste laskea, jolloin vesi ei mahdollisesti edes jäädy varastointiolosuhteissa (Cauvain ja Young 2000). Jos varastointilämpötila jostain syystä lämpenee varastoinnin aikana, mahdollistaa se jäätyttömän veden diffuusion leivästä ympäröivään ilmaan.

Leivän laatu pakastuksen ja sulatuksen aikana

Pakastusprosessi sisältää leivän näkökulmasta kaksi vaihetta; jääkiteiden muodostumisen sekä sitä seuraavan kiteiden kokojen kasvuvaiheen. Leivän riittämätön pakastus, pakkasvarastointi ja sulatus voivat nopeuttaa vanhenemista (Vulicevic ym. 2004). Koska leivän vanhenemisen nopeuden on tutkittu kasvavan erityisesti 0-5 °C:n välillä (maksiminopeuden ollessa 4 °C:n kohdilla), huonosti toteutettu jäädytys-sulatus -prosessi voi kasvattaa merkittävästi vanhenemisen astetta leivän ohittaessa vanhenemisen optimilämpötilan jopa kahdesti (Almeida ym. 2016). Mitä kauemmin leivällä kestää ohittaa kriittinen lämpötila-alue, sitä merkittävämpi jäädytys-sulatus -prosessin vaikutus vanhenemiseen on (Cauvain 1998). Leivän laadun kannalta sen lämpötila on tärkeää saada nopeasti kriittisen lämpötila-alueen ohi leipää pakastettaessa. Pence ja Sandridge (1995) totesivat pakastuksen ja sulatuksen aiheuttavan yhtä paljon vanhenemista kuin leivän 24 tunnin säilytys huoneenlämmössä. Siksi leipä, joka aiotaan syödä vuorokauden sisällä, ei hyödy pakastuksesta.

Pakastus on leivän huokoisen rakenteen ansiosta monia muita elintarvikkeita monimutkaisempi prosessi. Lämmön siirtymisen ja kosteuden diffuusion välillä on yhteys, jota mutkistaa vielä veden muutos jääksi (Hamdami ym. 2004). Erityisesti pakkaamattomien leipien pakastuksessa ilmenee painonmenetystä, joka johtuu mm. esiviilennyksen aikana tapahtuvasta veden haihtumisesta ja varastoinnin aikana tapahtuvasta jään sublimoitumisesta. Pakastuksen aikana leivän pinnan lämpötila on suurempi kuin kiertävän ilman, minkä vuoksi myös pinnan vesihöyryn paine on suurempi

kuin ilman (Hamdami ym. 2004). Paine-ero johtaa kosteuden siirtymiseen leivästä ulos, mikä puolestaan kasvattaa kosteuden siirtymistä leivän sisältä pintaan päin. Leivän sisälle muodostuu pakastuksen edetessä ”jääkerros”, joka laajentaa jäätyneen alueen pinta-alaa. Leivän jäätyättömästä osasta siirtyy vettä kohti tätä jäätynyttä aluetta, mikä aiheuttaa veden uudelleenjärjestymistä sekä jäätyneillä että jäätyttömällä alueilla (Hamdami ym. 2004). Veden siirtyminen lähenevää jääkerrosta kohti aiheuttaa leivän keskiosan merkittävää kuivumista.

Leivän nopea pakastus on välttämätöntä laadun säilyttämiseksi. Pakastusnopeus määrää jääkiteiden koon, sillä nopea pakastus tuottaa runsaasti pieniä jääkiteitä ja hidas pakastus määrältään vähemmän, mutta suurempia jääkiteitä (Zaritzky 2012). Leivät tulisikin pakastaa koosta riippuen 4-8 tunnin sisällä uunista poisoton jälkeen (Stear 1990). Pakastuksen nopeutta rajoittavia tekijöitä ovat ilmannopeus ja leivän lämmönsiirtymiskerroin, joka kasvaa leivän tilavuuden kasvaessa. Lämpötila, nopeus ja kylmän ilman suhteellinen kosteus (lämpötilan ollessa kaikkein merkittävin tekijä) vaikuttavat eniten ilman parametreista leivän painonmenetykseen, kuoren ja sisuksen rajapinnan jään määrään sekä pakastusaikaan (Hamdami ym. 2007).

Usein tuotteiden pakastamisessa n. -10 °C:seen käytetään pikajäähdytintä (blast freezer) ja ilmaa, jonka lämpötila on n. -30 °C ja nopeus 2-4 m/s (Stear 1990). Kun huokoinen leipä laitetaan pikajäähdyttimeen, suoraan ilmaan kosketuksissa oleva pinta jäähtyy lämmön siirtyessä konvektion, säteilyn ja haihtumisen kautta pois leivästä. Pinnan jäähtyminen puolestaan aiheuttaa lämmön siirtymistä leivän sisältä pinnalle. Hamdamin ym. (2007) tutkimuksessa havaittiin, että osapaistettujen leipien nopea pakastus (5 m/s ja -40 °C) minimoi leivän painonmenetystä ja jäädytysaikaa. Hidas pakastus (0,5 m/s ja -20 °C) prosessin alussa puolestaan minimoi jään määrää sisuksen ja kuoren rajapinnassa. Hidas pakastus pienentää leivän ja ilman lämpötilaeroa samoin kuin kosteuden siirtymistä leivän sisältä pinnalle. Samalla leivän pinnalta ehtii haihtua enemmän kosteutta ilmaan vähentäen pinnan kosteuspitoisuutta ja syntyvän jään määrää. Kun sisuksen ja pinnan rajapinta on jäätynyt hitaan pakastuksen aikana, aloitetaan nopea pakastus. Hidas pakastus prosessin alussa yhdistettynä nopeaan pakastukseen alun jälkeen vähensi tutkimuksen mukaan vielä enemmän jään määrää kuin pelkkä hidas pakastus, mutta pakastusaika ja painonmenetys kasvavat pelkkään nopeaan pakastukseen verrattuna.

Teollisilla pakastuslämpötiloilla leivän mikrobiologinen aktiivisuus pysäytetään, mutta sulatuksen jälkeen elinkelpoiset mikro-organismit kykenevät kasvamaan ja

moninkertaistumaan tuotteessa. Lisäksi osapaistettujen tai valmiiksi paistettujen pakasteleipien hyllyikä sulatuksen ja loppupaiston jälkeen on suoraleivontaan verrattuna paljon lyhyempi myös nopeamman vanhenemisen vuoksi (Jussila 2014). Nopeamman vanhenemisen on havaittu liittyvän esimerkiksi lasinsiirtymälämpötilaan. Lasinsiirtymislämpötilaa korkeammissa lämpötiloissa jäätymättömän veden on tutkittu kasvattavan tärkkelyksen molekyyliliikettä (Ronda ja Roos 2008). Myöhempi varastointi korkeammassa lämpötilassa puolestaan kasvattaa tärkkelyskiteiden kasvua ja kehittymistä johtaen nopeampaan uskitumiseen. Tästä syystä n. -18 °C:n lämpötilassa varastoidut pakasteleivät voivat sulamisen jälkeen vanheta tuoreita leipiä nopeammin.

Sulatuksella ei ole yhtä merkittävää vaikutusta leivän laatuun kuin pakkasvarastoinnilla (Fik ja Macura 2001). Pidemmän pakastusajan leivän laatuun sulatusmetodi kuitenkin vaikuttaa jonkun verran. Fikin ja Macuran (2001) tutkimuksessa vehnä-ruisleipä, jota sulatettiin ilmapuhalluksella (50 °C, 95 min) sai aistinvaraisessa tutkimuksessa korkeammat laatuasteet kuin leipä, jota sulatettiin mikroaaltouunimenetelmällä (700 W, 5 min). Leipien fysikaalis-kemiallisissa mittauksissa mikroaaltouunimenetelmä osoittautui kuitenkin pääosin paremmaksi sulatusmenetelmäksi. Pakasteleipien tuottajilla on harvoin vaikutusmahdollisuuksia siihen, miten kuluttajat kotonaan leipiä sulattavat. Leipäpakkauksen kyljessä on silti hyvä lukea jonkinlainen ohjeistus siitä, millä tavoin kyseinen leipä suositellaan sulatettavan.

2.2.2 Pakkausmateriaalit

Pakasteleipien pakkauksien tehtävänä on suojata leipää fysikaalisilta, kemiallisilta ja biologisilta vaurioilta sekä toimia fyysisenä esteenä mm. kosteuden ja haihtuvien yhdisteiden siirtymiselle pakkauksesta pois. Pakkausmateriaalin avulla pystytään pidentämään leivän säilyvyyttä minimoimalla leipään vaikuttavat reaktiot. Tärkeimpiä pakasteleivän pakkausmateriaalin tehtäviä on pitää kosteushäviö mahdollisimman alhaisena ja sisältää hyvät hapelta suojaavat ominaisuudet, rikkoutumista estävä fysikaalinen vahvuus (matalissa lämpötiloissa), hyvä kuumasaumautuvuus ja matala hinta (Cauvain ja Young 2000). Kaasujen läpäisevyyden esto-ominaisuudet pakkauksessa eivät ole yhtä merkittävät kuin vesihöyryn läpäisyn estäminen, sillä kemiallisia reaktioita ei tapahdu merkittävällä nopeudella alhaisissa lämpötiloissa.

Leivät voidaan pakastaa pakkauksessa, ilman pakkausta tai käärittynä suojamateriaaliin. Vaikka pakkaus hidastaa jäätymisprosessia, pakatut leivät säilyvät tuoreempina kauemmin johtuen korkeammasta kosteudenpidätyksestä. Polyetyleenikalvot ovat usein suosittuja

pakkausmateriaaleja, vaikka materiaalit vaihtelevatkin käytetystä tuotteesta riippuen. Pakkausmateriaalit ovat usein suhteellisen taipuisia ja kestävät hyvin käsittelyä, jolloin pakkaus säilyy vahingoittumattomana läpi tuotantoprosessien. Veden haihtumiselta ja kosteuden siirtymiseltä leivässä suojaa matalan vesihöyryn läpäisevyyden omaava pakkausmateriaali (Brown ym. 2011). Tiiviisti pakattu, mahdollisimman vähän ilmaa sisältävä pakkaus ehkäisee veden haihtumista. Lämpötilan vaihtelut voivat kuitenkin aiheuttaa kuivumista, jos pakkaus ei ole tiiviisti tuotteen ympärillä. Tuotteesta siirtyvä vesi jää tällöin pakkauksen sisälle muodostaen jäistä hilettä. Pakastuksen aikana tapahtuva vähäinen leipien kutistuminen voi lisäksi aiheuttaa pakkauksen tyköistuvuuden menetystä, jos leipä on pakattu ennen pakastusta.

Leivän oksidatiiviseen stabiilisuuteen vaikuttavat erityisesti ilman tai hapen määrä, lämpötila, valo ja lipaasit (Novotni ym. 2011). Pakkasvarastoinnin aikana kokonaisfenolimäärän sekä oksidatiivisen stabiilisuuden on tutkittu laskevan. Fenolisia yhdisteitä, jotka toimivat antioksidantteina, käytetäänkin pakkausominaisuuksien indikaattoreina. Novotnin ym. (2011) tutkimuksessa havaittiin, että leivän oksidatiivinen stabiilisuus on parempi sinisessä korkeatiheyksisessä polyeteenipussissa (PE-HD) kuin läpinäkyvässä PET-PE/EVAL/PE -pussissa johtuen valoa huonommin läpäisevästä sinisestä väristä.

2.2.3 Pakasteleipien laadun ja säilyvyyden parantaminen

Ruisleivän laatua ja säilyvyyttä voidaan parantaa erilaisten vedensidontaan vaikuttavien aineiden kautta. Veden liikettä leivässä kyetään vähentämään esimerkiksi suuren vedensidontakyvyn omaavilla hydrokolloideilla tai liukoisten arabinoksyalaanien määrän kasvattamisella ksylanaasien lisäyksen kautta. Tärkkelystä hajottavien entsyymien lisäys taikinaan on tunnettu keino hidastaa leivän rakenteen kovettumista tärkkelyksen rakenteita muokkaamalla. Amylaasit mm. pilkkovat kristallirakenteita muodostavia tärkkelysmolekyylejä heikentäen tärkkelysverkostoa.

Entsyymit pakkasleivonnassa

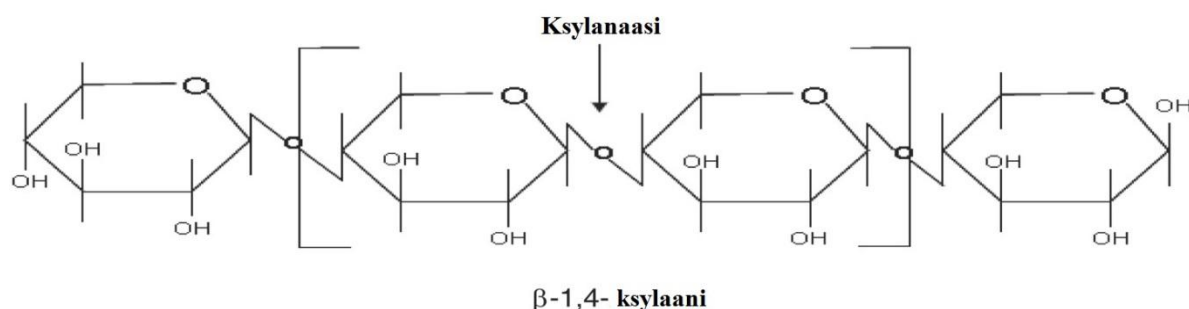
Jauhojen endogeenisten entsyymien lisäksi leivän valmistuksessa käytetään usein mikrobista alkuperää olevia entsyymejä, kuten amylaaseja, proteaaseja ja ksylanaaseja (Butt ym. 2008). Entsyymejä käytetään leivonnassa parantamaan taikinan ja leivän laatua sekä hidastamaan vanhenemisprosessia. Entsyymistä riippuen entsyymaattisessa käsittelyssä tapahtuu joko jauhojen biopolymeerien hydrolyysiä tai ristosilloittumista. Tärkkelystä ja muita hiilihydraatteja hydrolysoivien entsyymien käytöllä voidaan vaikuttaa mm. leivän tilavuuteen, makuun, gluteeniverkostoon, taikinan käsiteltävyyteen ja muotoutuvuuteen sekä sisuksen rakenteeseen. Erityisesti ei-tärkkelys polysakkarideja pilkkovien entsyymien käyttö johtaa taikinan reologisten ominaisuuksien paranemiseen. Ristosilloittavat entsyymit kykenevät muodostamaan esimerkiksi proteiinien ja hiilihydraattien välille kovalenttisia sidoksia, jotka vahvistavat taikinan sitkoa. Leipomoalan alati kasvava luonnollisempien tuotteiden kysyntä on kasvattanut entsyymien käyttöä teollisessa leivonnassa.

Hapanleipätaikinan raskin positiivisia vaikutuksia voidaan parantaa entsyymien avulla. Esimerkiksi α -amylaasien, pentosaanien ja endoksyalaanien lisäysten on tutkittu hidastavan hapanleivän vanhenemista ja kovenemista mm. kasvattamalla happamoitumisen vaikutusta (Crosetti ym. 2000). Aina entsyymien käyttö hapanleivässä ei kuitenkaan tuota tulosta. Di Cagno ym. (2003) tutkivat hapantaikinan maitohappobakteerien ja yleisimpien eksogeenisten entsyymien välisiä vuorovaikutuksia ja havaitsivat, että yhdestätoista maitohappobakteerilajista vain kolmeen entsyymilisäys vaikutti positiivisesti. Hapan ympäristö voi häiritä entsyymien toimintaa ja aktiivisuutta, ja näin ollen estää entsyymien positiiviset vaikutukset taikinan reologiaan ja säilyvyyteen. Tutkimuksesta huomattiin kuitenkin, että joskus hapantaikinan ja entsyymien yhteiskäyttö johti myös positiivisiin tuloksiin, kuten taikinan voimistumiseen.

Entsyymien käyttöä pakkasleivonnassa ei ole tutkittu vielä kovin paljoa. Tutkimuksia löytyy vain lähinnä osapaistettujen leipien ja pakkastaikinoiden osalta. Almeida ja Chang (2012) tutkivat esimerkiksi glukolipaasin, hemisellulaasin ja heksoosioksidaasin vaikutusta osapaistetun pakasteleivän leivontakäyttäytymiseen sekä valmiin leivän ominaisuuksiin. Entsyymit tuottivat tutkijoiden mielestä tyydyttävän lopputuloksen sekä vaikuttivat nostatusaikaan, uuninousuun sekä sisuksen kovuuteen.

Ksylanaasit

Ksylanaasit (endo- β -(1,4)-d-ksylanaasit) ovat hydrolyyttisiä entsyymejä, jotka pilkkovat kasvin soluseinän ksylaania kasvattaen niiden liukenevuutta ja sitä kautta lisäävät vedensidontaa leivonnassa (kuva 7). Ne ovat yksiketjuisia glykoproteiineja, jotka ovat aktiivisia pH:ssa 4,5-6,5 ja lämpötilassa 40-60 °C, ja joiden molekyylipaino vaihtelee 6-80 kDa:n välillä (Butt ym. 2008). Optimaaliset lämpötila- ja pH-arvot vaihtelevat ksylanaasien eri lähteiden välillä. Sieniperäiset endoksylanaasit ovat esimerkiksi aktiivisimmillaan happamissa olosuhteissa (pH 3,5-5,5) ja stabiileja laajalla pH-välillä, kun bakteeriperäiset endoksylanaasit puolestaan toimivat parhaiten korkeammassa pH:ssa (pH 6,0-7,0) ja omaavat kapeamman pH-aktiivisuusvälin (Courtin ja Delcour 2002). Mikrobisia ksylanaaseja on eristetty useita kymmeniä tavoitteena löytää optimaalinen entsyymi teolliseen tuotantoon. Ksylanaaseja tuottavat yleisimmin sienet, kuten mm. *Aspergillus* ja *Trichoderma* -mikrobien eri lajit (Butt ym. 2008). Jotkin ksylanaasit jaetaan kahteen ryhmään niiden molekyylimassan ja isoelektrisen pisteen perusteella; matalan molekyylimassan ksylaaneihin (<30 kDa, pI neutraali) ja korkean molekyylimassan ksylaaneihin (>30 kDa, pI hapan) (Wong ym. 1988). Glykosidaasientsyymejä jaetaan myös yleisesti omiin perheisiin kolmiulotteisen rakenteen sekä molekyylimekanismien samankaltaisuuksien perusteella (Henrissat ja Coutinho 2001).



Kuva 7. Ksylaenin rakenne, johon ksylanaasin toimintakohta on merkitty (muokattu Butt ym. 2008).

Ksylanaasien on tutkittu parantavan leivän tilavuutta ja rakennetta sekä vähentävän tahmeutta, jonka vuoksi niitä käytetään leivän laadun ja säilyvyyden parantamisessa (Butt ym. 2008). Ksylanaasien on lisäksi havaittu hidastavan vanhenemista tärkkelysgeelin

uuskitetyymistä hidastamalla (Kim ja D'appolonia 1977). Ksylanaasi voikin esimerkiksi korvata eri emulgaattorit ja lisäaineet leivän valmistuksessa. Vehnäaikinaan ksylanaasin lisääminen kasvattaa mm. taikinan venyvyyttä ja turpoamista sekä vähentää sen vastustusta venytykseen (Jiang ym. 2008). Ksylanaasien käyttö kasvattaa myös taikinan sietokykyä eri jauholaaduille sekä prosessiparametrien muutoksille (Butt ym. 2008). Ruisleivonnassa endoksyylanaasin hyödyt ovat vehnäleivontaa merkittävämpiä, sillä ksylanaasit kasvattavat taikinan tilavuutta niin fermentaation kuin nostatuksenkin aikana, minkä vuoksi niiden kestoajoja voi pienentää voimakkaasti (Autio ym. 1996; Courtin ja Delcour 2002). Ksylanaasin lisäys ruistaikinaan kasvattaa lisäksi amyloosin vapautusta tärkkelysjiyväsistä (Autio ym. 1996).

Courtinin ym. (1999) tutkimuksessa havaittiin, että ksylanaasit vaikuttivat leivän tilavuuteen positiivisesti madaltamalla veteen liukenemattomien arabinoksyalaanien konsentraatiota ja kasvattamalla samalla liukoisten arabinoksyalaanien määrää. Merkittävä arabinoksyalaanien hydrolyysi aiheuttaa myös veden uudelleenjakautumista arabinoksyalaaneilta gluteeni- ja tärkkelysfaaseille tehden tällöin taikinan löysemmäksi, pehmeämmäksi ja viskoosimmaksi (Butt ym. 2008). Liukenemattomien arabinoksyalaanien muuttuminen pilkkoutumisen vuoksi liukenevammiksi kasvattaa taikinan nestemäisen faasin viskositeettia ja parantaa siten leivän laatua. Entsyymiliuotetun sekä liukenevan arabinoksyalaanin hajoaminen puolestaan johtaa arabinoksyalaaniosien molekyylimassan pienenemiseen, niiden viskositeettia kasvattavien ominaisuuksien vähenemiseen ja taikinan vedensidontakyvyn laskemiseen. Ksylanaasien liiallinen käyttömäärä tuottaakin tarttuvia taikinoita, minkä lisäksi taikinasta voi tulla myös liian pehmeää (Courtin ym. 1999). Tästä syystä entsyymejä käytettäessä määrä tulisi optimoida.

Ksylanaasien on tutkittu toimivan hyvin myös yhdistelmänä muiden entsyymien kanssa, sillä ksylanaasin synergistiset eli samansuuntaiset ominaisuudet muiden entsyymien kanssa voivat tuottaa parempia tuloksia verrattuna sen käyttämiseen yksistään (Butt ym. 2008). Valikoitujen käyttömäärien ja entsyymien avulla ehkäistään esimerkiksi erilaatuisten jauhojen aiheuttamia laatueroja lopputuotteissa. Transglutaminaasin kanssa ksylanaasilla on arveltu olevan positiivinen vaikutus ruistaikinaan ja -leivän ominaisuuksiin. Döringin ym. (2017) tutkimuksessa transglutaminaasi ja ksylanaasi kasvattivat ruistaikinan proteiiniverkostoa jopa 38 % ja tilavuutta lähes 11 %. Pentosaanien, endoksyylanaasien ja *Lactobacillus hilgardii* -maitohappobakteerien on myös yhdessä havaittu hidastavan leivän kovettumista ja vanhenemista (Di Cagno ym. 2003).

Endoksylyanaaseilla voi olla spesifisyyksiä esimerkiksi joko vesiliukoisiin tai veteen liukenemattomiin arabinoksyylaaneihin. Leivonnassa haluttuja ksylanaaseja ovat ne, jotka keskittyvät veteen liukenemattomien arabinoksyylaanien pilkkomiseen. Tällöin ksylanaasit kasvattavat taikinan stabiilisuutta, leivän tilavuutta, sisuksen rakennetta ja pehmeyttä sekä kasvattavat fermentaation stabiilisuutta, mekaanisen stressin vastustusta ja uuninousua (Courtin ja Delcour 2002). Vesiliukoisia arabinoksyylaaneja pienemmiksi pilkkovat endoksylyanaasit vähäisesti käytettynä aiheuttavat negatiivisia vaikutuksia leipään. Vesiliukoisten arabinoksyylaanien pilkkoutuminen voi aiheuttaa vehnäleivonnassa mm. taikinan ja leivän laadun heikentymistä (Courtin ja Delcour 2002). Korkeammilla pitoisuuksilla veteen liukenemattomien arabinoksyylaanien pilkkoutuminen voi mahdollisesti estää negatiiviset vaikutukset.

Ksylaanaasien lisäyksen on tutkittu parantavan pakasteleipien laatua. Jiang ym. (2008) tutkivat ksylaanaasin vaikutusta pakastettuihin osapaistettuihin leipiin ja havaitsivat, että pakasteleipien laatu parani ja niiden vanheneminen hidastui verrattuna kontrollileipiin. Pakasteleipien tilavuus kasvoi jopa yli 30 % ja sisuksen kovuus väheni 40 %. Tutkimuksen kontrollileivissä havaittiin enemmän amylopektiinin uskityymistä kuin ksylaanaasia sisältävissä pakasteleivissä, minkä lisäksi ksylaanaasin lisäys madalsi jäätyvän veden entalpiamuutosta (ΔH) viitaten jäätyvän veden määrän vähenemiseen pakasteleivissä. Ksylaanaasi vaikutti lisäksi leivän sisuksen kokonaistilavuuden pienenemiseen ja pakkaskutistumiseen niitä vähentäen pakastuksen aikana.

Maltaat

Maltaat ovat idätettyä viljaa, joiden entsyymiaktiivisuus on korkea. Itämisen aikana jyvän aleuronikerroksessa syntetisoidaan suuri määrä viljan entsyymejä, kuten amylaaseja ja proteaaseja, jotka siirtyvät endospermiin vapauttamaan varastoproteiinien tyyppiä sekä tärkkelyksen sokereita alkion kehitystä varten. Soluseinien, proteiinien ja pienten tärkkelysjyvästen pilkkoutuminen kasvattaa jyvän ravintoaineiden hyödynnettävyyttä. Maltaiden idätyksen aikana jyvistä pilkkoutuu mm. arabinoksyylaaneja endoksylyanaasien ja arabinofuranosidaasien toimesta ja proteiineja endopeptidaasien ja karboksipeptidaasien toimesta. Maltaiden valmistukseen kuuluva kuumennusvaihe puolestaan pienentää jyvien kosteuspitoisuutta ja pysäyttää metaboliset prosessit muodostaen Maillard-yhdisteitä ja kasvattaen maku- ja aromiprofiileja.

Viljan idätyksellä ja mallastuksella saadaan aikaan raaka-aineita, joiden ravitsemuksellinen laatu on parantunut (Hübner ja Arendt 2013). Tällaisten raaka-aineiden lisääminen

taikinaan voi kasvattaa taikinan entsyymiaktiivisuutta sekä parantaa leivän ravitsemuksellista laatua. Zadeike ym. (2018) havaitsivat, että vehnämaltaan sisältämät entsyymit voivat toimia synergeettisesti muiden biogeenisten lisäaineiden kanssa ja kasvattaa leivän rapeutta sekä parantaa taikinan ja leivän laatua. Katina ym. (2006) tutkivat puolestaan fermentoituneiden leseiden sisältämien entsyymien vaikutusta vehnäleipiin ja havaitsivat, että entsyymit vahvistivat proteiiniverkostoa ja paransivat erityisesti leivän kaasunpidätystä. He huomasivat myös entsyymien ja raskin synergeettiset vaikutukset leipien tilavuuteen, jota voivat selittää muuttunut veden jakautuneisuus eri komponenttien kanssa ja tiettyjen soluseinien osien (mm. pentosaanien) liukoisuuksien kasvu. Maltaiden lisääminen on lisäksi kasvattanut leipien tilavuuksia (Mäkinen ja Arendt 2012). Leivän tilavuuden kasvu voi johtua hapanteivissä osittain maltojen amylolyyttisten entsyymien aiheuttamasta tärkkelyksen pilkkoutumisesta. Syntyneet glukoosi-, maltoosi-, maltotriosisakkaridit ja maltodekstriinit ruokkivat hapantaikinan hiivaa, jolloin sen toimintakyky paranee.

Erityisesti korkean sakoluvun jauhoista valmistetut taikinat ja leivät hyötyvät maltojen tuomasta entsyymilisäyksestä. Bakteeri-, sieni- ja viljaperäisten α -amylaasilisäysten on tutkittu parantavan leivontalaatua vaikuttamalla tärkkelyksen vedensidontakykyyn ja tuottamalla suuria määriä jäännösidekstriiniä. Amylaasien on myös tutkittu tuottavan pehmeämpiä leipiä ja hidastavan leivän vanhenemista, jonka vuoksi erityisesti sieniperäisten amylaasien käyttö on yleistä leipomoteollisuudessa (Corsetti ym. 2000; Hug-Iten ym. 2001). Luonnollisesti idätyksen kautta aktivoituvien entsyymien käyttö maltaan tai idätetyn viljan kautta voisi vähentää tai korvata teollisessa leivonnassa käytettyjä entsyymejä (Marti ym. 2017). Hansen ym. (2000) mittasivat endogeenisten α -amylaasien, endoksylanaasien, β -ksylosidaasien ja α -arabinofuranosidaasien aktiivisuuksia idätettävissä rukiinjyvissä ja havaitsivat niiden kasvavan merkittävästi idätyksen edetessä. Endoksylanaasin aktiivisuus kasvoi tutkimuksessa esimerkiksi noin kymmenkertaiseksi idätyksen aikana ja soluseiniä hajottavien entsyymien aktiivisuuksien kasvu korreloi voimakkaasti α -amylaasin aktiivisuuden kanssa.

Leivonnassa käytetyistä mallastuotteista yleisimpiä ovat mallasuutteet, jotka sisältävät halutun viljan amylolyyttistä aktiivisuutta. Suurimpia mallasuutteiden käytön vaikutuksia ovat taikinan viskositeetin sekä leivän tiheyden lasku (Mäkinen ym. 2013). Maltaiden liian suuret määrät leivonnassa lisäävät kuitenkin mm. taikinan tarttuvuutta liian suuren amylolyyttisen aktiivisuuden vuoksi (Mäkinen ja Arendt 2012).

Muut leivontaentsyymit

Teollisuudessa entsyymejä, kuten proteaaseja, ksylanaaseja, sellulaaseja ja amylaaseja, käytetään mm. gluteeniverkoston vahvistamisen ja leipomotuotteiden laadun parantamisen vuoksi. Proteaasit muokkaavat taikinan reologisia ominaisuuksia ja tuottavat leipiin väriä ja makua pilkkomalla jauhojen proteiineja. Transglutaminaasi ja lakkaasi ovat puolestaan esimerkkejä ristisilloittavista entsyymeistä, jotka sitkon vahvistamisen lisäksi kasvattavat taikinan käsiteltävyyttä ja leivän tilavuutta (Selinheimo ym. 2006). Transglutaminaasin on tutkittu esimerkiksi kasvattavan ruisleivän elastisuutta ja tilavuutta sekä parantavan ruistaikinan reologista käyttäytymistä muodostamalla vakaan ja elastisen proteiiniverkoston (Beck ym. 2011). Beckin ym. (2011) mukaan transglutaminaasin pitoisuus ruisleivonnassa on kuitenkin syytä pitää matalana (<1000 U transglutaminaasia/kg jauhoa), sillä sen kustannukset ovat suhteellisen korkeat ja suuremmilla pitoisuuksilla sen käyttö pienentää leivän tilavuutta ja kasvattaa sisuksen kovuutta. Lakkaasi kykenee muodostamaan taikinassa voimakkaan arabinoksylaaniverkoston ja kasvattaa taikinan venytysvastusta venyvyyttä vähentäen (Selinheimo ym. 2006). Sitä käytetään erityisesti kasvattamaan heikkolaatuisten jauhojen venytysvastusta. Lakkaasin vaikutuksen on arveltu johtuvan esteröityneen ferulahapon ja taikinan arabinoksylaanifraktion välisestä ristisilloittumisesta (Selinheimo ym. 2006). Ristisilloittavat entsyymit voivat olla hyödyllisiä varsinkin gluteenittomassa leivonnassa.

Amylolyyttiset entsyymit ovat leivonnassa käytetyistä entsyymeistä yleisimpiä. Ne auttavat säätämään jauhojen sakolukua ja muokkaavat taikinarakennetta hidastaen tärkkelyksen uuskitetyymistä (Corsetti ym. 2000; Goesart ym. 2009). Amylolyyttisten entsyymien tyyppi (α -amylaasit, β -amylaasit, glukoamylaasit, isoamylaasit ja pullulanaasit) vaikuttaa merkittävästi niiden toimintaan tärkkelysverkostossa.

Teollisuuden käyttämiä muita entsyymejä ovat mm. leipää vaalentavat sekä sekoituskestävyyttä ja taikinan reologiaa parantavat lipoksygenaasit, leivän tilavuutta ja taikinan vahvuutta kasvattavat glukoosioksidaasit sekä triglyseridien hajottamisen kautta leivän pehmeyttä edistävät lipaasit ja monoglyseridit (Purhagen ym. 2011)

Hydrokolloidit pakkasleivonnassa

Hydrokolloidit eli kumit ovat suuren molekyylipainon omaavia hydrofiilisiä molekyyliä, joita käytetään paljon leipomoteollisuudessa ja gluteenittomassa leivonnassa niiden taikinan reologisia ominaisuuksia muokkaavien kykyjen vuoksi. Gluteeniton leivonta hyötyy hydrokolloidien gluteenin toimintaa jäljittelevästä vaikutuksesta

(Arendt ym. 2008). Hydrokolloideilla on suuri vedensidontakyky, jonka ansiosta ne stabiloivat taikinaa ja leipää, pehmentävät leivän rakennetta sekä parantavat laatua (Guarda ym. 2004). Korkean vedensidontakykynsä avulla ne muodostavat viskoelastisen geelin, joka jäljittelee gluteenia sisältävän taikinan rakennetta ja kasvattaa taikinan kestävyyttä (Sabanis ja Tzia 2011). Hydrokolloidit pidentävät lisäksi leivän hyllyikää ehkäisemällä kosteuden siirtymistä. Tyypillisesti hydrokolloidien käyttö määrä leivonnassa on pieni, sillä jopa alle yhden prosentin (w/w jauhoista) määrä hydrokolloideja kasvattaa vedenpidätystä ja leivän tilavuutta sekä vähentää kovuutta ja tärkkelyksen uuskiteytymistä (Bourekoua ym. 2017). Käytettyjen hydrokolloidien alkuperä, partikkelikoko ja pääyhdisteet sekä niiden käytetty määrä, prosessointiolosuhteet ja muut raaka-aineet määräävät kuitenkin hydrokolloidien vaikutukset taikinan käyttäytymiseen ja myöhemmin leivän laatuun.

Hydrokolloidit pystyvät vedensidontakykynsä ansiosta stabiloimaan tuotteita jäädytys- sekä sulatusjaksojen aikana ja vähentämään pakastuksen ja pakkasvarastoinnin aiheuttamia negatiivisia vaikutuksia (Lee ym. 2002; Bárcenas ym. 2004). Makromolekyylien, kuten hydrokolloidien, on tutkittu hidastavan jääkiteiden leviämisenopeutta liuoksissa, minkä lisäksi kiteytymisen nopeuden on havaittu hidastuvan hydrokolloidikonsentraation ja viskositeetin kasvaessa (Blond 1988).

Käytettyjä hydrokolloideja ovat leivonnassa esimerkiksi hydroksipropyylimetyyli-selluloosa eli HPMC, guarkumi, ksantaani ja κ -karrageeni. HPMC:n on tutkittu vähentävän leivän kuoren kovuutta, hillitsevän pakastuksen aiheuttamia vaurioita sekä kasvattavan leivän tilavuutta ja vedensidontakykyä (Bárcenas ym. 2004). Ksantaani on sakeuttamis- ja stabilointiaine, jota käytetään varsinkin gluteenittomassa leivonnassa. Sen käyttö matalilla konsentraatioilla voi kasvattaa leivän tilavuutta ja tuottaa pehmeämmän kuoren (Mandala 2005). Ksantaanin käytön kanssa tulee olla erityisen varovainen, sillä sen liiallinen käyttö määrä voi huonontaa leipien laatua.

Psyllium on kuitulisä, jota saadaan aasialaisen ratamosuvun kasvin (*Plantago ovata*) siemenkuoresta kuivaamalla. Ravintokuitujen on tutkittu raaka-aineena mm. hidastavan sekä liisteröitymisen että uuskiteytymisen kinetiikkaa, mistä johtuen myös psylliumin on havaittu hidastavan leivän vanhenemista (Santos ym. 2008; Cappa ym. 2013). Psylliumkasvin siemenkuori sisältää hydrokolloideja, jotka muodostavat vahvan geelin vedessä. Muodostunut geeliverkosto vangitsee sisäänsä nostatuksessa muodostunutta hiilidioksidia parantaen taikinan kaasunpidätyskykyä (Salovaara ym. 2017). Psylliumia käytetään paljon gluteenittomassa leivonnassa johtuen sen kyvystä kasvattaa taikinan

viskositeettia ja muodostaa käsiteltävyydeltään paremman taikinan. Psylliumia voidaan lisäksi käyttää pakkasleivonnassa ehkäisemään jääkiteiden muodostumista (Czuchajowska ym. 1992). Psylliumkuitu rakentuu hydrokolloidien lisäksi suurilta osin liukoisesta polysakkaridifraktiosta, joka sisältää runsaasti arabinoksylaania. Psylliumin sisältämän arabinoksylaanin rakenne eroaa kuitenkin rukiin arabinoksylaanista, sillä sen Ara:Xyl suhde on 0,3 rukiin vastaavan suhteen ollessa tyypillisesti korkeampi (Saghir ym. 2008). Psylliumia käytettäessä täytyy optimoida tarkkaan veden määrä, jotta leipien sisus ei kovenne liian vähäisestä veden määrästä johtuen (Cappa ym. 2013).

2.2.4 Pakkasleivonnän tulevaisuus

Tutkimus pakasteleipien laadun parantamisesta on vielä hyvinkin kesken. Tarve yhä luonnollisimmille pakastelaatua parantaville valmisteille on kova. Yksi mahdollisesti merkittävä, mutta vielä lapsenkengissä oleva tutkimusaihe on kasveista eristettävät proteiinit, jotka madaltavat veden jäätymispistettä ja ehkäisevät näin veden jäätymistä. Nämä jäätymisenestoproteiinit ("antifreeze proteins, AFPs" tai "Ice Structuring Proteins, ISPs") kykenevät kiinnittymään jääkiteisiin pienentäen niiden kokoa merkittävästi ja samanaikaisesti ehkäisemään uudelleenkiteytymistä (Clarke ym. 2002). Näistä syistä jäätymisenestoproteiinien on ennustettu omaavan paljon potentiaalia pakasteruokien laadun parantajina (Kontogiorgos ym. 2007).

Veden uudelleenkiteytymistä estäviä proteiineja eristetään esimerkiksi kylmiin olosuhteisiin tottuneiden kasvien lehdistä ja niiden uskotaan raaka-aineina parantavan pakasteruokien jään muodostumisesta johtuvia laatuongelmia. Talvirukiista (*Secale cereale L.*) eristettyjen proteiinien vaikutusta on tutkittu esimerkiksi jäätelön valmistuksessa. Kaleda ym. (2018) havaitsivat jäätymisenestoproteiinien pienentävän huomattavasti jäätelön jääkiteitä ja vähentävän niiden uudelleenkiteytymistä. Proteiinit kuitenkin kasvattivat kiteiden kasautumista jäykäksi kolmeulotteiseksi verkostoksi, mikä kasvatti jäätelön rakenteen kovuutta. Xu ym. (2009) havaitsivat puolestaan talvivehnästä eristettyjen jäätymisenestoproteiinien suojaavan pakasteleipätaikinan vedensidontakapasiteettia pitkittyneen pakkasvarastoinnin sekä jäädytys- ja sulatusjaksojen aikana, jotka tyypillisesti vaikuttavat negatiivisesti leipätaikinan vedensidontakykyyn ja samalla leivontaominaisuuksiin. Tutkimuksia tarvitaan silti vielä runsaasti ennen mahdollisuutta lisätä jäätymisenestoproteiineja teollisuuden raaka-aineeksi. Pakasteleipien jääkiteistä ja veden liikkeestä johtuvia laatuongelmia jäätymisenestoproteiinit voisivat tulevaisuudessa kuitenkin vähentää.

3 KOKEELLINEN TUTKIMUS

Tutkimustyö ruisleivän pakastamisesta ja pakastuksen vaikutuksista ruisleivän laatuun ja säilyvyyteen on maailmanlaajuisestikin vasta aluillaan. Erityisesti viennin vuoksi valmiiksi paistettujen pakasteleipien laatuvaurioiden, kuten veden liikkeestä johtuvan valkean renkaan, ennaltaehkäisy kiinnostaa. Valkean renkaan ilmestyminen on havaittu useimmissa pakasteleivissä, mutta erityisesti tummissa ruisleivissä se erottuu selvästi aiheuttaen kummastusta kuluttajien keskuudessa.

Kokeellisen tutkimuksen päätavoitteena oli parantaa pakasteruisleivän säilyvyyttä erityisesti pakkasvarastoinnin aiheuttamien laatuvaurioiden ehkäisemisen kautta ja laatua pakasteruisleipien rakenteen parantamisen avulla. Pakasteruisleipien laatua ja säilyvyyttä pyrittiin parantamaan käyttämällä apuna liukoisten arabinoksyylaaniin määrää suurentavaa ksylanaasia, entsyymaattisesti aktiivista mallasjauhetta sekä voimakkaasti vettä sitovaa psylliumia. Kuluttajien vaatiessa yhä luonnollisempia elintarvikkeita tutkimuksessa käytettävät aineet valikoitiin sen perusteella, etteivät ne lisänneet ruisleivän ainesosaluetteloon lisäainemerkintöjä.

Esikokeissa haluttiin löytää lisäksi olosuhteet, joissa valkea rengas saadaan mahdollisimman nopeasti aikaan, ja tutkia pystyvätkö ksylanaasi, mallasjauhe tai psyllium ehkäisemään valkean renkaan syntyä. Esikokeissa suoritettiin myös ruisjauhojen ja ruisraskin ominaisuuksien karakterisointi.

3.1 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

3.1.1 Koemateriaalit

Leivonnassa käytettiin ruisjauhoja ja raskin takaisinraskituksissa sekä ylläpidossa ruisraskijauhoja (taulukko 6). Ruisjauhojen kosteuspitoisuus oli 11,7 % ja ruisraskijauhojen 10,2 %. Jauhojen kosteuspitoisuudet (n=5) määritettiin uunissa käyttämällä kaappikuivausmenetelmää AACC 44-15A (Termaks, Termaks AS, Bergen, Norja). Ruisjauhojen sakoluku oli 157 ja ruisraskijauhojen 101. Jauhojen sakoluvut määritettiin menetelmällä AACC 56-81B sakolukulaitteen avulla (Falling number 1800, Ruotsi). Koeleivonnoissa käytettiin leipomon vesijohtovettä (27 ± 1 °C). Tutkimuksessa käytettiin leivonnan perusraaka-aineiden lisäksi mahdollisesti ruisleivontaominaisuuksia parantavia psylliumia, ksylanaasia ja mallasjauhetta (taulukko 6).

Taulukko 6. Ruisleipien koeleivontojen raaka-aineet ja niiden tiedot.

Raaka-aine	Merkki	Valmistaja	Tunnus	Valmistusmaa	Parasta ennen
Ruisjauho ¹⁾		Fazer Mylly	10022017	Suomi	
Ruisraskijauho ¹⁾		Fazer Mylly		Suomi	13.4.2017
Suola (NaCl) ²⁾	Jodioitu ruokasuola JOZO	Akzo Nobel		Tanska	31.10.2018
Psyllium ²⁾	Finax	Finax AB		Ruotsi	
Ksylanaasi ¹⁾	Depol 740L	Biocatalysts	18070	Iso-Britannia	
Ruisentsyymimallas (jauhe) ¹⁾		Laihian Mallas		Suomi	
Tuore ruizraski ³⁾		Moilas Oy		Suomi	

1) Säilytys jääkaapissa +5-6 °C

2) Säilytys huoneenlämmössä 19-22 °C

3) Säilytys huoneenlämmössä 19-22 °C takaisinraskitusten välillä

3.1.2 Menetelmät

Ruisraskin ominaisuuksien määrittäminen

Ruisraskinsiemenen saamisen jälkeen sitä takaisinraskitettiin kahdesti (1. ja 2. takaisinraskitus) (taulukko 7) ja ylläpidettiin päivittäin lisäämällä siihen ruizraskijauhoja ja vettä (TT 210). Raskille suoritettiin myös ennen jokaista leivontaa 2. takaisinraskitus, jossa ylläpidetty ruizraski, ruizraskijauho ja vesi sekoitettiin hyvin keskenään viiden litran muoviämpäriissä ja jätettiin 16 tunniksi nostatuskaappiin (30 °C, RH 80 %) (TSC 1900 Lillnord Topleveline, Tanska) aktiivisen raskin tuottamiseksi.

Taulukko 7. Ruisraskin takaisinraskituksessa käytetyt reseptit.

Raaka-aineet	1. takaisinraskituksen resepti ¹⁾	2. takaisinraskituksen resepti ²⁾
Ruisraskijauhot (g)	600	709
Vesi (g)	1000	1378
Ruisraski (g)	25	100 (1. takaisinraskituksesta)
Taikinatulos	266	293

1) Olosuhteet: 37 °C, 8 h, RH 80 %

2) Olosuhteet: 30 °C, 16 h, RH 80 %

Ruisraskin happoluvun ja pH:n määritykset

Ruisraskin happamuutta seurattiin pH:n ja happoluvun määrittämisellä. Ruisraskin takaisinraskituksen ensimmäisenä päivänä (6.3.2017) sen pH mitattiin pH-indikaattoritestiliuskojen avulla (pH 3,8-5,4 Merck). Seuraavasta päivästä lähtien pH mitattiin pH-mittarilla (PHM 210 MeterLab, Radiometer analytical, Ranska), joka kalibroitiin ennen jokaista mittausta puskuriliuoksilla (pH 4 ja pH 7) ja mittarin elektrodi huuhdeltiin tislattulla vedellä. Ruisraskinäytettä punnittiin 10 grammaa 250 ml dekantterilasiin, johon lisättiin myös 95 ml tislattua vettä ja 5 ml asetonia (CH_3COCH_3). Ruisraskiseosta sekoitettiin Bamix-sauvasekoittimella 75 sekuntia hitaalla nopeudella (nopeus I), jonka jälkeen näytteen annettiin seistä huoneenlämmössä 20 minuuttia. Näytettä titrattiin 0,1M natriumhydroksidilla (NaOH) automaattititraattorin (Mettler Toledo DL53 titrator, USA) ja magneettisauvan avulla, kunnes sen pH saavutti 8,5. Näytteen annettiin tämän jälkeen seistä 5 minuuttia, ja titrattiin uudelleen arvoon pH 8,5. Happoluku on sama kuin titraukseen kulunut NaOH:n määrä (ml) pH:n pysyttyä $8,5 \pm 0,1$:ssä vähintään minuutin ajan. Toistoja tehtiin kaksi joka mittauskerta.

Ruisraskin hiilidioksidintuoton määrittäminen

Ruisraskin hiivojen hiilidioksidintuottoaktiivisuutta tutkittiin risografilla (National Manufacturing Lincoln, Nebraska, USA). Ruisraskinäytettä punnittiin kahteen rinnakkaiseen risografin kaukaloon 50 g, jonka jälkeen kaukalot suljettiin tiiviisti kansilla, asetettiin risografin vesihauteeseen (30 °C) ja liitettiin siihen letkuilla. Risografi ohjelmoitiin mittaamaan syntynyt hiilidioksidin määrä kahden minuutin välein. Ruisraskin hiilidioksidintuottoa kuvattiin sekä keskiarvoista muodostetuilla käyrillä että kumulatiivisesti lasketuilla keskiarvokäyrillä.

Ruisraskin kokonaismikrobiluku

Kokonaismaitohappobakteerien määrittäminen suoritettiin de Man, Rogosa & Sharpe -agarin (MRS) avulla ja kokonaishiivojen määrittäminen hiiva-mallas -agarin (YM) avulla tutkimuksen loppupuolella. Raskin 2. takaisinraskituksen jälkeen siitä mitattiin 10 g:n näyte, joka sekoitettiin fysiologisen liuoksen (90 ml) kanssa ja homogenoitiin Stomacher-laitteella (Calworth). Seoksesta valmistettiin steriloituihin lasikoeputkiin laimennossarja pipetoimalla 1 ml näytettä 9 ml:aan fysiologista liuosta aseptisesti laminaari-ilmavirtauskaapissa. Laimennossarja tehtiin -2:sta -9:ään asti ja jokaisen pipetoinnin jälkeen laimennosputkia sekoitettiin Vortexilla.

Laimennoksista -3, -4 ja -5 pipetoitiin kahdelle rinnakkaiselle YM-agar -maljalle 0,1 ml näyteliuosta, joka levitettiin pintaviljelynä maljalle lanan avulla. Maljoja inkuboitiin 25 °C:ssa 48 h, jonka jälkeen hiivojen kokonaislukumäärät laskettiin maljoilta pesäkkeiden keskiarvona laimennokseen suhteutettuna.

Laimennoksista -6, -7 ja -8 pipetoitiin kahdelle puhtaalle rinnakkaismaljalle 1 ml näyteliuosta, jonka jälkeen maljalle kaadettiin nestemäistä MRS-agaria. Näyte sekä agar sekoitettiin keskenään pyörivin liikkein maljalla. Maljat kuivatettiin laminaari-ilmavirtauskaapissa ennen niiden inkubointia 30 °C:ssa 48 h. Maitohappobakteerien kokonaismäärä laskettiin inkuboinnin jälkeen maljoilta pesäkkeiden keskiarvona laimennokseen suhteutettuna.

Entsyymimääritykset

Ruisraskien ja -jauhojen liukoisen pentosaanin määrittäminen spektrofotometrisesti

Liukoisen pentosaanin määrä mitattiin ruis- ja ruisraskijauhoista, kontrolliraskista ja raskista, johon oli lisätty Depol 740L ksylanaasia pitoisuuksissa 10, 100 ja 500 nkat/g jauhoja. Määrittäminen tehtiin menetelmäohjeella, joka on käytössä VTT:llä (Santala 2010). Ksylanasi pipetoitiin raskeihin, joille suoritettiin verrokkiraskin kanssa 2. takaisinraskitus (16 h, 30 °C, RH80), jonka jälkeen n. 10 g raskinäytteet rinnakkaisnäytteineen siirrettiin minigrip-pusseihin (Mini, 10x11 cm) ja pakkaseen (-20 °C, 62 h). Näytteet siirrettiin vielä -80 °C:seen kahdeksi tunniksi, jonka jälkeen ne pakkaskuivattiin pussit avonaisina (91 h) (FTS Systems Dura-Stop Stoppering Tray Dryer, SP Scientific, Warminster, PA USA).

Pakkaskuivattuja raskinäytteitä ja kuivaamattomia jauhonäytteitä punnittiin 0,25 g 15 ml:n falcon-putkiin, joihin pipetoitiin lisäksi 8 ml lämpötilaltaan 4 °C milliQ-vettä. Jokaisesta näytteestä tehtiin kolme rinnakkaisnäytettä. Raski- ja jauhoseoksia sekoitettiin Vortex-sekoittajalla 10 sekunnin ajan ja siirrettiin tasoravisteliijaan vaakatasoon 15 minuutiksi 4 °C lämpötilassa. Näytteet sentrifugoitiin (4 °C, 20 min, 3220 rcf) (Eppendorf 5810 Centrifuge) ja niiden supernatantit siirrettiin 10 ml muovisiin koeputkiin, joita keitettiin 15 min. Keiton jälkeen näytteseokset jäähdytettiin jäävedessä ja niistä siirrettiin n. 2 ml eppendorf-putkiin (2 ml) ja sentrifugoitiin (10 min, 18407 rcf) (Eppendorf AG Centrifuge 5424, Hamburg).

Sentrifugoidut raskiseokset laimennettiin milliQ-vedellä suhteessa 1:50 ja jauhoseokset suhteessa 1:25. Niistä pipetoitiin 1 ml keitonkestäviin putkiin. Standardisuoraa varten pipetoitiin 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 ja 1 ml ksyloosiliuosta, jotka laimennettiin vedellä tilavuuteen

1 ml. Sekä näytteiden että standardisuoran putkiin lisättiin 5 ml uuttoliuosta (taulukko 8), jonka jälkeen ne sekoitettiin (Vortex) ja asetettiin kiehuvaan vesihauteeseen 25 minuutiksi. Nopean jäävesijähdytyksen (3 min) jälkeen putkissa olevia näyte- ja standardisuoraliuoksia sekoitettiin (Vortex) ja niistä kaadettiin osa spektrofotometrin kyvetteihin. Liuosten absorbanssit mitattiin spektrofotometrillä aallonpituuksilla 552 ja 510 nm (Shimadzu UV-1800 Spectrofotometer, Japan).

Standardien ksyloosipitoisuus ja erotus $A_{552}-A_{510}$ esitettiin standardisuorana ja näytteen pentosaanipitoisuus laskettiin kaavalla:

$$P = 0,88 \times C \times V \times D / M / 1000 \times 100,$$

jossa

P = pentosaanipitoisuus (%)

C = standardisuoralta luettu pentoosipitoisuus (mg/ml)

V = uuttotilavuus (ml)

M = punnittu näytemäärä (g)

0,88 = korjauskerroin pentooseista pentosaaneiksi

D = laimennoskerroin

1000 = muunnos mg/ml → mg/l

100 = muutos prosenteiksi

Taulukko 8. Liukoisen pentosaanin määrittämissä käytetyt reagenssit ja niiden määrät.

Reagenssit	Määrä (ml)
Uuttoliuos:	
- Etikkahappo >99,8 %	187
- Suolahappo 37 %	3,4
- Glukoosi 1,75 % w/v	1,7
- Fluroglusinoli etanolissa 20 % w/v	8,5
Ksyloosin käyttöliuos 0,01 %	0,2; 0,4; 0,6; 0,8 ja 1

Ruisjauhon paisuntaluku

Ruisjauhon paistuntaluku sekä jauhoihin lisättyjen entsyymituotteiden vaikutukset paisuntalukuun määritettiin menetelmällä AACC 76-21 käyttäen Rapid Visco Analyser -laitetta (RVA, Newport Scientific Pty. Ltd, Australia) (AACC 1997). Mittauksessa käytettävien ruisjauhojen (6,23 g) ja veden (19 ml) määrät laskettiin ruisjauhojen kosteuspitoisuuden perusteella. Jauhoihin lisättiin eri määrät tutkittavaa ksyloanaasia ja

ruismallasjauhetta (taulukko 9). Ksylanaasien pitoisuuksiksi valittiin samat kuin liukoisen pentosaanin määrittämisessä (10, 100 ja 500 nkat/g jauhoja). Mallasjauheiden paisuntalukutulosten perusteella päätettiin leivontoihin sopiva prosentuaalinen lisäysmäärä.

Taulukko 9. Paisuntalukumittauksessa käytetyt entsyymituotteet sekä niiden mitatut määrät.

Lisätty entsyymituote	Merkki	nkat/g jauhoja	Määrä
Ksylanaasi	Depol 740L	10	4,1 µl
Ksylanaasi	Depol 740L	100	41 µl
Ksylanaasi	Depol 740L	500	205 µl
Mallasjauhe (1 %)			0,062 g
Mallasjauhe (3 %)			0,187 g

Koeleivonta

Esikokeiden kaksi leivontaa ja varsinaiset koeleivonnat suoritettiin samalla menetelmällä, mutta käyttäen eri määriä vettä. Ensimmäisessä esikoeleivonnassa taikinatulos oli 168 ja toisessa 183 (veden määrä ensimmäisessä esikoeleivonnassa 84 g ja toisessa 150 g). Veden määrää lisättiin reseptissä, kun huomattiin, että leivistä tuli liian tiiviitä pienemmillä vesimäärillä. Kaavio leivontaprosessista on liitteenä 1. Koeleivonnat suoritettiin taulukon 10 mukaisella reseptillä, jossa reseptin kaikki jauhot (ruisjauhot ja raskin ruiskijauhot) on laskettu yhteen ja muiden raaka-aineiden prosentuaalinen osuus on laskettu kokonaisjauhomäärästä. Koeleivonnoissa ruistaikin taikinatulos (TT) oli 189.

Taulukko 10. Varsinaisissa koeleivonnoissa käytetty ruisleipäresepti.

Raaka-aineet	Määrä (g)	% jauhojen painosta
Ruisraski ¹⁾	375 ¹⁾	
<u>Ruisjauho</u>	347	100
Raskin sis. ruiskijauho	130	
<u>Vesi</u>	180	89
Raskin sis. vesi	245	
<u>Suola</u>	3,8	0,8
Yhteensä	905,8	189,8
Ksylanaasi (ml)	0,840	n. 0,2
Psyllium ²⁾	2,8	0,6
Mallasjauhe	4,75	1

¹⁾ Ruisraskin määrää ei ole laskettu raaka-aineiden yhteismäärään, sillä sen sisältämä vesi ja ruiskijauhot on laskettu ruisjauhojen ja veden kanssa erikseen.

²⁾ Psylliumtaikinassa vähennettiin lisättyjen ruisjauhojen määrää 20 % (=278 g), jolloin TT oli 180.

Esikoeleivonnat

Esikoeleivonnoissa ruisleivät leivottiin aluksi vain perusreseptillä tarkoituksena saada esille veden liikkeestä ja kuivumisesta aiheutuva valkea rengas. Renkaan aikaansaamiseksi kokeiltiin erilaisia pakastusolosuhteita, joissa veden liikettä pyrittiin nopeuttamaan. Valkeat renkaat onnistuttiin parhaiten saamaan aikaiseksi säilyttämällä ruisleipiä kaksi viikkoa -10 °C:ssa avonaisissa minigrip-pusseissa, joskin joissakin ruisleivissä valkean renkaan muodostumista havaittiin jo viikon pakastamisen jälkeen. Ennen siirtoa -10 °C:seen ruisleipiä pidettiin vuorokausi pikapakastuskaapissa -26 °C:ssa, johon ne oli siirretty tunti paiston jälkeen.

Esikoeleivonnoissa haluttiin selvittää mallasjauheen lisäämisvaiheesta riippuvia eroavaisuuksia ruisleivissä. Sama määrä mallasjauhetta lisättiin toisen taikinan raskiin ennen 2. takaisinraskitusta ja toiseen taikinaan vasta raaka-aineiden sekoitusvaiheessa. Myös psylliumin ja ksylanaasin lisäystä haluttiin testata esikokeilla, jotta mahdolliset reseptin muutostarpeet nähtäisiin. Esikoeleivonnoissa selvitettiin lisäksi muodostuuko ruisleipiin valkea rengas lisätyistä aineista (mallasjauhe, ksylanaasi ja psyllium) huolimatta. Ruisleipiä pakastettiin suljetuissa minigrip-pusseissa kaksi viikkoa -10 °C:ssa ja niille suoritettiin tilavuuden, kovuuden, painon ja huokoskoon mittaukset sekä aistinvaraiset arvioinnit sulatuksen jälkeen. Ruisleivistä mitattiin myös happoluvut.

Ruistaikinan valmistus, nostatus ja paisto

Taikinoihin käytettävät ruisraskit valmistettiin leivontaa varten suorittamalla niille 2. takaisinraskitus. Ksylanasaistaikinoiden raskeihin lisättiin 0,840 ml ksylanaasia ennen 2. takaisinraskitusta, jotta ruisraskin arabinoksyalaanit ehtisivät pilkkoutua fermentaation aikana. Ruisraskeja fermentoitiin nostatuskaapissa (TSC 1900 Lillnord Topline, Tanska). Leivontojen aikana sekä raaka-aineiden että valmiiden ruisleipien punnitsemiseen käytettiin Precisa 12000G (Precisa, Britannia) tai Mettler PE 1600 (Mettler Toledo, USA) -vaakoja. Vaa'at kalibroitiin aina ennen käyttöä.

Käytetyn psylliumin määrä laskettiin tuotteen valmistajan ohjeistuksen mukaisesti (1-1,5 rkl / 5 dl nestettä). Psylliumtaikinan reseptiin tehtiin pieniä muutoksia psylliumin suuren vedensidontakyvyn vuoksi. Psylliumruistaikinan ruisjauhojen määrää pienennettiin 20 %, jolloin taikinatulos oli 180 (jauhoja 278 g). Mallasjauhemäärä (1 % jauhojen määrästä) valittiin paisuntalukumittausten perusteella, sillä 1 % ja 3 % käyttömäärien välillä ei näkynyt suuria eroavaisuuksia. Ksylanasaasin määrä (0,84 ml = 100 nkat/ g jauhoa) valittiin paisuntakäyrien ja liukoisen pentosaanin mittaustuloksien perusteella.

Korkeimman ksylanaasipitoisuuden (500 nkat/ g jauhoa) arveltiin olevan liian suuri leivontaa varten ja pienimmän pitoisuuden (10 nkat/ g jauhoa) liian pieni.

Ruistaikinoihin käytettävän veden lämpötila oli 26 ± 1 °C ja raskin n. 27 °C. Ruisjauhot, psyllium ja mallasjauho siirrettiin noin tunti ennen käyttöä huoneenlämpöön. Kaikkia raaka-aineita sekoitettiin joko Santos (10L Santos 27, Ranska) tai Hobart (USA) taikinasekoittajissa 2 minuuttia hitaalla nopeudella ja 9 minuuttia nopeimmalla nopeudella. Sekoituksen jälkeen ruistaikinoiden annettiin levätä liinan alla 35 minuuttia huoneenlämmössä. Ruistaikinoista punnittiin vaa'alla (Precisa 240A) noin 90 g:n painoisia taikinapaloja, jotka muotoiltiin palaleiviksi käsin. Ruispalaleipiä leivottiin yhteensä 108 kpl eli 27 leipää per resepti. Punnitut ja muotoillut ruistaikinapalat siirrettiin teräspelleille leivinpaperin päälle ja nostatuskaappiin 45 minuutiksi 35 °C:seen (RH80). Nostatuksen jälkeen ruisleipiä paistettiin arinauunissa (Sveba Dahlen Classic DL-22, Ruotsi) 15 minuuttia 250 °C:ssa. Paiston alussa ruisleipiä höyrytettiin arinauunin höyrytystoiminnolla kaksi sekuntia rapean kuoren aikaansaamiseksi. Paiston jälkeen ruisleipiä jäähdytettiin tunnin ajan huoneenlämmössä ritilikön päällä liinalla peitettynä.

Kesken kolmatta rinnakkaisleivontaa tullut rakennuksen palohälytys vaikutti leivontoihin niin, että ksylanaasiruisleivät piti ottaa uunista pois kahden minuutin paiston jälkeen. Takaisin uuniin ne saatiin vasta 40 minuutin päästä, jolloin ksylanaasiruisleipiä paistettiin täydet 15 minuuttia. Keskeytys vaikutti ainoastaan ksylanaasiruisleipiin siten, ettei niiden kuori repeillyt samalla tavalla kuin muiden rinnakkaisleipien, mutta ruisleivät nousivat kuitenkin tavallisen määrän. Myös muilta mittaustuloksiltaan kolmannen rinnakkaisleivonnan ksylanaasiruisleivät olivat kahden rinnakkaisleivonnan ksylanaasiruisleipien tulosten kaltaiset, jonka vuoksi niiden mittaustulokset päätettiin ottaa mukaan keskiarvoihin.

Pakastus

Ruisleivät siirrettiin painon, tilavuuden, tiheyden ja kovuuden mittausten jälkeen kahden tunnin sisällä paistosta pikapakastimeen (Kopal pakastekaappi, Kopal Keittiöt Oy, Suomi) -26 °C:seen. Tunnin kuluttua ruisleipien sisuksen lämpötilaksi mitattiin pakastekaapissa -2,5 °C. Ruisleivät siirrettiin noin kolmen tunnin jälkeen pakastekaapista pakkahuoneeseen -18 °C:seen neljäksi viikoksi.

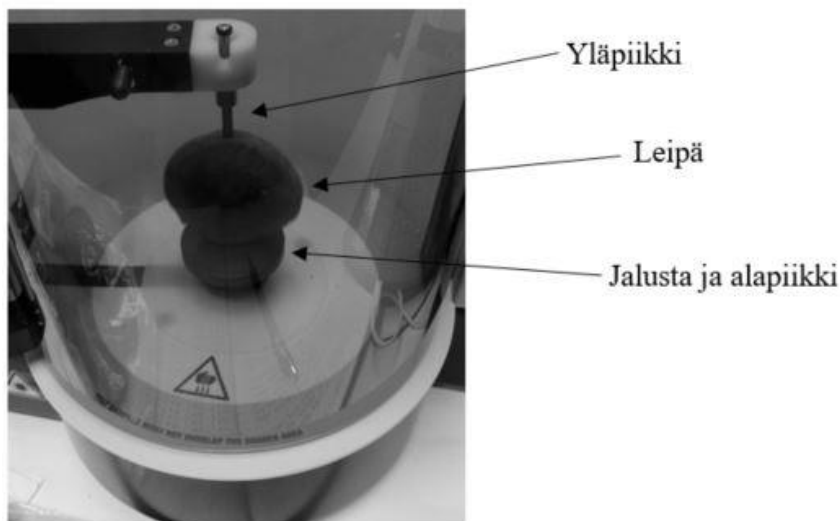
Ruisleivät otettiin neljän viikon pakkassäilytyksen jälkeen huoneenlämpöön (22 °C) sulamaan ja niille suoritettiin painojen, tilavuuksien ja kovuuksien mittaukset sekä aistinvaraiset mittaukset samalla lailla kuin ennen pakastusta. Pakastuksen jälkeen

rinnakkaisruisleipien (n=96, 24 kpl/resepti) painojen avulla laskettiin pakastushäviö. Mittausten suoritus aloitettiin noin 1,5 tuntia huoneenlämpöön oton jälkeen, kun ruisleivät tuntuivat koskettaessa sulaneilta.

Ruisleipien mittaukset

Ruisleipien (n=108) jäähtyttyä noin tunnin ajan ne punnittiin ja painoista laskettiin paistohäviö rinnakkaisruisleipien painojen keskiarvona. Punnituksen jälkeen ruisleivät siirrettiin kahden litran minigrip-pusseihin ja niistä mitattiin tilavuus, tiheys, kovuus sekä aistinvaraiset mittaukset. Viimeisimmän leivontaerän aikana kustakin ruistaikinasta suoritettiin myös risografimittaukset.

Ruisleipien tilavuudet ja tiheydet mitattiin VolScan Profiler-laitteella (VolScan Profiler 300, Stable Micro Systems LTD, Iso-Britannia), joka loi 3D-mallin laitteessa olevasta näytteestä ja kertoi mm. näytteen tilavuuden (ml), ominaistilavuuden (ml/g), tiheyden (kg/m^3), leveyden ja korkeuden (mm) sekä näistä laskettuja suhteita. Psylliumruisleivästä tehty 3D-malli on liitteenä 3. Ruisleivät kiinnitettiin laitteen piikkeihin sivuttaisesti niin, että ruisleipä oli kyljellään mittauksen ajan (kuva 8). Tilavuutta ja tiheyttä mitattiin sekä paiston että pakastuksen jälkeen. Jokaisen ruisleipäreseptin keskitilavuudet ja -tiheydet laskettiin rinnakkaisten mittausten tuloksista (27 kpl/resepti ennen pakastusta, 24 kpl/resepti pakastuksen jälkeen).



Kuva 8. Leipien kiinnittäminen VolScan Profiler-laitteeseen.

Ruisleipien kovuutta mitattiin aineenkoetuslaitteella (Texture Analyser, TA-XT2i Stable Micro Systems LTD, Iso-Britannia) AACC 74-09 "Bread Firmness"-menetelmää apuna käyttäen (AACC 2000). Koettimena mittauksissa käytettiin 36 mm alumiinisylinteriä (P/36R) ja vastuksena 30 kg:n voimakennoa, sillä 5 kg:n voimakenno ei riittänyt tiiviiden

ruispalaleipien kovuuden mittauksiin, vaan aiheutti ylikuormituksen. Kovuutta mitattiin sekä paiston että pakastuksen jälkeen. Ruisleivät asetettiin laitteen alustalle oikeinpäin ja laite mittasi kovuuden kokonaisten leipien päältä keskeltä. Ruispalaleipien kuoren katsottiin olevan tarpeeksi ohut mittaamista varten. Esikokeissa ruisleipien sisuksen kovuutta yritettiin myös mitata, mutta leivät murenivat liikaa leikattaessa. Jokaisen ruisleipäreseptin leipien keskikovuudet laskettiin rinnakkaisten mittausten tuloksista ($n=27$ ennen pakastusta, $n=24$ pakastuksen jälkeen).

Ruisleipien kuoren väriä ja repeilevyyttä arvioitiin sanallisesti leipien jäähtyttyä. Ennen leipien pakastusta muiden mittausten jälkeen jokaisen leipäerän leipä nro. 9 halkaistiin ja siitä tarkistettiin maku ja huokoskoko Porentabellen taulukon (Dallman, 1981) (Liite 2) mukaan. Ruisleipien sulatuksen ja muiden mittausten jälkeen kaikki leivät halkaistiin mahdollisten valkeiden renkaiden havaitsemiseksi ja maistettiin (työn tekijän toimesta). Ruisleipien makuja kuvailtiin sanallisesti.

Ksylanaasi-, mallas- ja perusruisleiville suoritettiin pakastuksen jälkeen happolukumittaukset. Psylliumin lisäyksen ei arveltu vaikuttavan ruisleipien happolukuun, joten niistä happolukumittauksia ei suoritettu. Happolukumittaukset suoritettiin samalla lailla kuin raskin osalta, mutta raskin sijaan näytteenä käytettiin 10 g:aa ruisleipää. Happolukumittausten yhteydessä otettiin ylös näytteiden pH-luvut. Toistomittauksia suoritettiin kaksi jokaiselle ruisleipätyypille.

Tilastolliset analyysit

Mittaustulosten keskiarvot ja hajonnat laskettiin Excel-tilastokalkulaattorilla (Microsoft Excel 2016) ja samalla ohjelmalla tehtiin kuvaajat ja taulukot. Tilastollinen tulosten erojen analysointi suoritettiin yksisuuntaisella varianssianalyysillä IBM SPSS Statistics-ohjelmalla. Merkitsevyyden rajana pidettiin 5 %:n riskitasoa. Tukeyn testiä käytettiin selvittämään, mitkä ruisleipänäytteet erosivat toisistaan merkitsevästi tarkasteltavan ominaisuuden suhteen. Normaalijakautuneisuus arvioitiin Shapiro-Wilk-testin kautta. Sen mukaan ruisleipien painot, kovuudet ja ominaistilavuudet olivat normaalisti jakautuneita, mutta tilavuuden ja tiheyden suhteen esimerkiksi psylliumruisleipien tulokset eivät olleet. Varianssianalyysin sijaan niille tuloksille, jotka eivät olleet normaalijakautuneita, käytettiin merkitsevyyden mittaamisessa jakaumasta riippumatonta Kruskal-Wallis -testiä.

3.2 TULOKSET

3.2.1 Ruisraskiin ja entsyymeihin liittyvät tulokset

Ruisraskin happamuus

Leipomolta saadun ruisraskin pH:ta ja happolukua seurattiin tutkimuksen ajan (taulukko 11). Ruisraskin happamuuden seuraamisella haluttiin varmistaa, että se säilyy leivontoihin sopivana koko tutkimuksen ajan. Lisäksi ruisraskin kehitystä haluttiin seurata sen ylläpidon ajan. Ensimmäisen mittauksen mukaan ruisraskin pH oli saataessa 4,4 eli miedosti hapan. Ruisraskin takaisinraskitusten jälkeen pH oli laskenut jo 3,7:ään ja happoluvuksi mitattiin 15,7. Viimeisten koeleivontojen jälkeen ruisraskin pH oli 3,5 ja happoluku 17,1, mitkä kertovat ruisraskin mikrobiston kehityksestä kahden kuukauden tasaisen ylläpidon ansiosta. Ruisraski happamoitui huomattavasti, minkä lisäksi siinä muodostuneiden happojen määrä kasvoi happoluvun noustessa.

Taulukko 11. Ruisraskin happoluku- ja pH-mittausten tulokset.

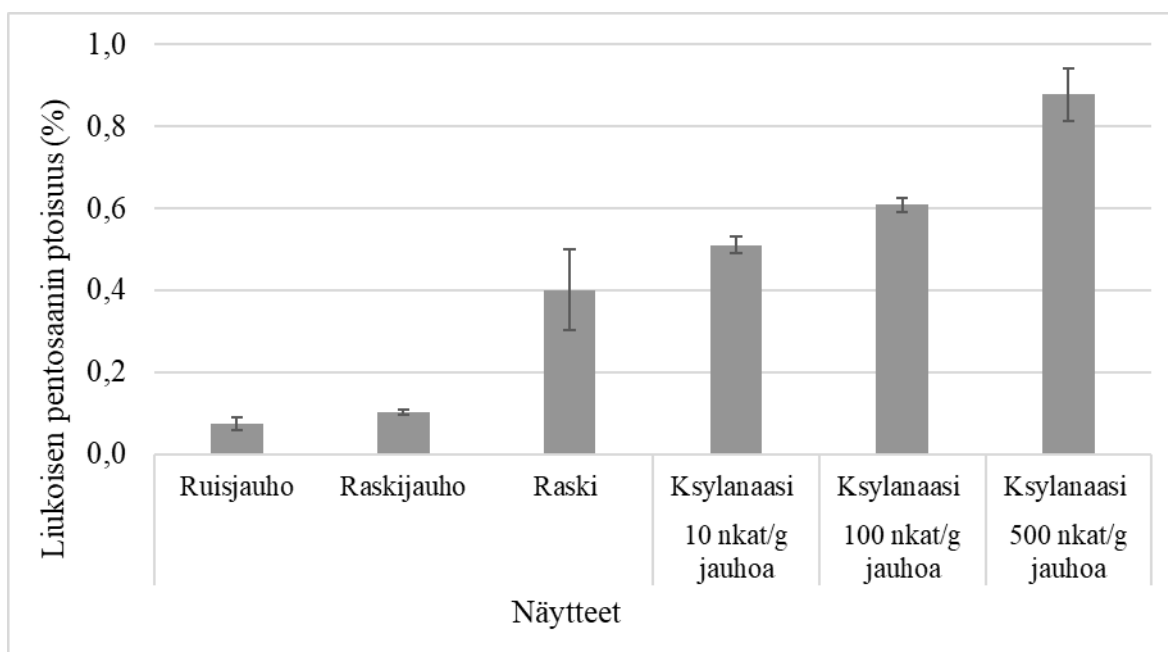
Mittauksen päivämäärä	Happoluku	pH
6.3.2017 (klo 9)		4,4
6.3.2017 (klo 16.30)		4
7.3.2017	15,7	3,7
17.3.2017	16,3	3,7
2.5.2017	17,1	3,5

Ruisraskista määritettiin leivontojen jälkeen kokonaismikrobiluku, jolla selvitettiin leivonnoissa käytetyn ruisraskin kokonaismaitohappobakteerien ja -hiivojen määrät sekä niiden suhde. Kokonaismaitohappobakteeriluvuksi saatiin $5,46 \times 10^8$ pesäkettä muodostavaa yksikköä millilitrassa (pmy/ml) ja kokonaishiivaluvuksi $1,49 \times 10^7$ pmy/ml. Leivonnoissa käytetyn ruisraskin maitohappobakteerien ja hiivojen suhdeluku oli siis noin 37:1.

Ruisraskin ja -jauhojen liukoinen pentosaani

Liukoisen pentosaanin pitoisuus oli suurempi raskissa kuin ruisjauhoissa ja se kasvoi mitä suurempi oli raskiin lisätyn ksylanaasin määrä (kuva 9). Ksylanaasi lisäsi ruisjauhonäytteiden liukoisten pentosaanien pitoisuutta. Ruisraskijauhojen liukoisten pentosaanien pitoisuus oli hieman suurempi kuin tavallisten ruisjauhojen, mutta ero oli pieni.

Mittausten tulosten perusteella päätettiin leivontoihin ottaa mukaan keskisuuri ksylanaasipitoisuus (100 nkat/g jauhoa), jotta vaikutus pakkasleivontaan varmasti tulisi esiin, mutta lisättävä pitoisuus olisi silti leivontaa ajatellen kohtuullinen.



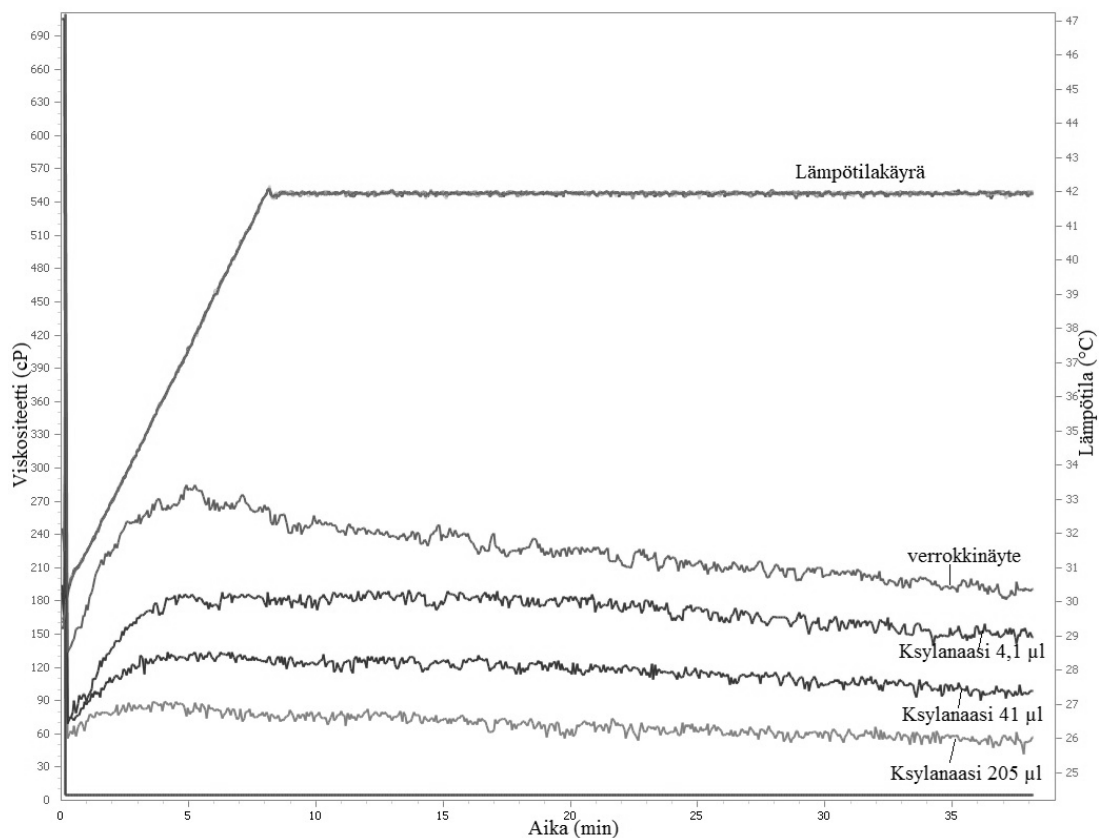
Kuva 9. Liukoisen pentosaanin pitoisuus ruis- ja raskijauhoissa sekä neljässä raskinäytteessä, joista kolmeen oli lisätty eri määrä ksylanaasia (10-500 nkat/g jauhoa).

Mallasjauheen ja ksylanaasin vaikutukset ruisjauhon paisuntalukuun

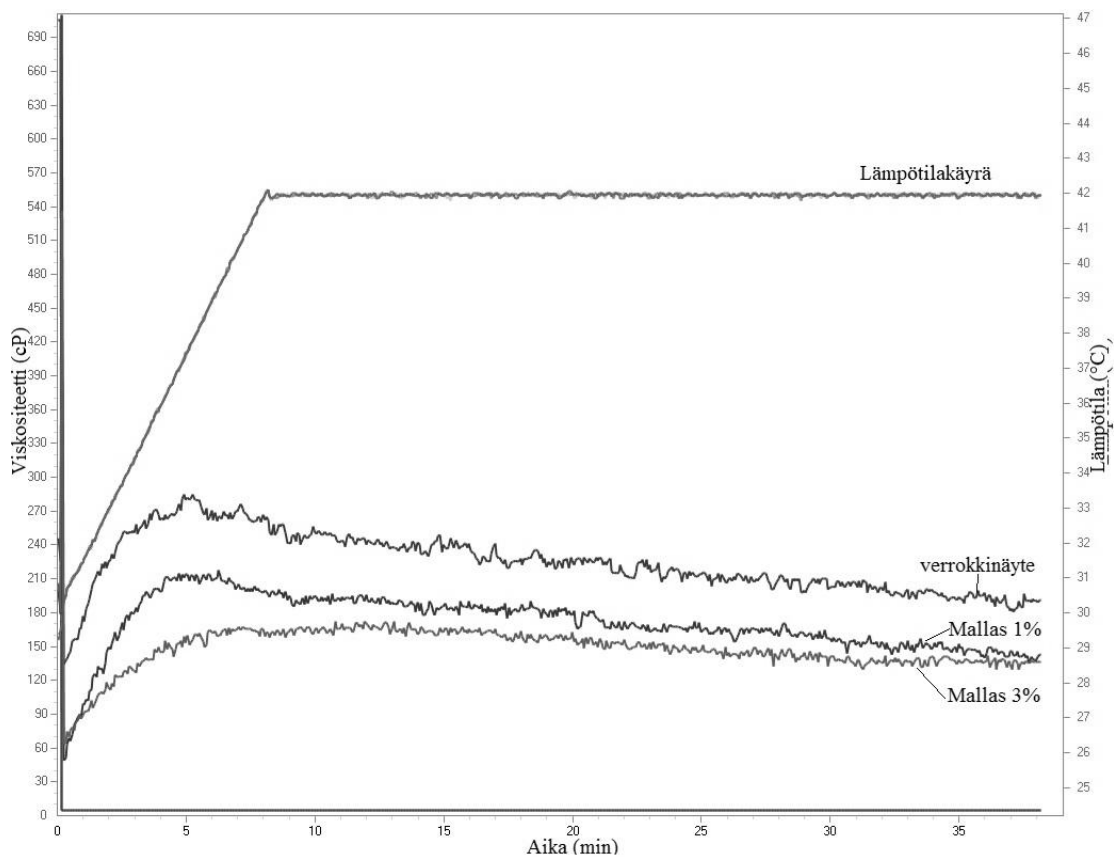
Paisuntaluku kuvaa sitä viskositeetin laskua, joka alkaa näytteen lämpötilan saavutettua 42 °C ja loppuu mittauksen lopussa (38 minuutin kohdalla). Ruisnäytteen viskositeetin lasku riippuu mm. turvonneen aineen määrästä, sen paisumiskyvystä/vedensidonnasta tai pentosaanien entsymaattisen hajoamisen nopeudesta. Mitä suurempi paisuntaluku on, sitä tehokkaammin näytteen viskositeetti on laskenut. Suurimmat paisuntaluvut mitattiin 205 µl ksylanaasia sisältävästä näytteestä, 3 % ruismallasjauhoa sisältävästä näytteestä sekä verrokinäytteestä (taulukko 12). Tässä tapauksessa paisuntalukuja paremmin tilannetta selittävät kuitenkin paisuntakäyrät (kuvat 10 ja 11), sillä kaikki ksylanaasi- ja mallasjauhemäärät laskivat huomattavasti ruisjauhojen viskositeettia jo ennen 42 °C:seen pääsyä.

Taulukko 12. Ruisjauhoihin lisätyt ksylanaasi- ja mallasjauhonäytemäärät, -pitoisuudet sekä niistä saadut paisuntaluvut.

Näyte	Määrä/6g ruisjauhoa	Pitoisuus (nkat/g ruisjauhoa)	Paisuntaluku
Ksylanaasi (µl)	4,1	10	107
Ksylanaasi (µl)	41	100	112
Ksylanaasi (µl)	205	500	147
Ruismallasjauhe (g) (1 %)	0,062		146
Ruismallasjauhe (g) (3 %)	0,187		71
Verrokki			142



Kuva 10. Ksylanaasia (4,1; 41 ja 205 µl) sisältävien ruisjauhonäytteiden ja verrokinäytteen paisuntakäyrät ajan funktiona RVA-laitteella mitattuna. Viskositeetin mitta on kuvaajan vasemmalla puolella, lämpötilan oikealla ja aika kuvaajan alla.



Kuva 11. Ruismallasjauhetta (1 % ja 3 %) sisältävien ruisjauhonäytteiden ja verrokinäytteen paisuntakäyrät ajan funktiona RVA-laitteella mitattuna. Viskositeetin mitta on kuvaajan vasemmalla puolella, lämpötilan oikealla ja aika kuvaajan alla.

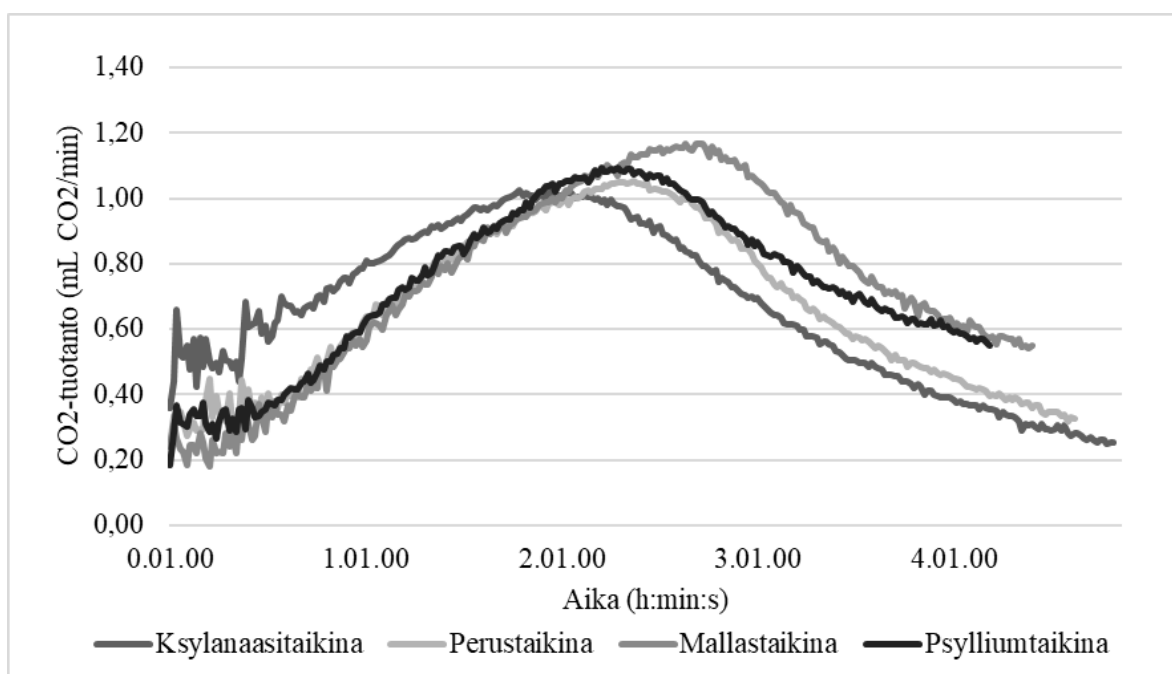
Ksylanaasia sisältävien ruisjauhonäytteiden paisuntakäyrät osoittivat selkeästi, että jopa pienin ksylanaasin lisäys (10 nkat/g) pienensi ruisjauhojen viskositeettia (kuva 10). Mitä enemmän ksylanaasia ruisjauhoihin lisättiin, sitä suurempi oli ruisjauho-vesiseoksen viskositeetin lasku. Ksylanaasit ehtivät pilkkoa pentosaaneja ennen kuin ne lämmön ja veden vaikutuksesta olisivat ehtineet turvota ja siksi koko paisuntakäyrä jäi matalaksi. Ksylanaasi pilkkoi todennäköisesti ruisjauhojen sisältämiä liukoisia pentosaaneja, jotka pilkkoutuessaan pienensivät ruisjauhonäytteen viskositeettia. Tulos poikkesi liukoisen pentosaanin mittauksen tuloksista, jossa nähtiin liukoisten pentosaanien määrän kasvavan ruisraskinäytteissä ksylanaasia lisättäessä. Paisuntalukumittauksen kesto oli kuitenkin liukoisen pentosaanin mittausta paljon lyhyempi, jolloin paisuntalukumittauksessa liukenemattomat pentosaanit eivät välttämättä ole vielä ehtineet pilkkoutua liukenevaan muotoon ja kasvattaa viskositeettia.

Mallasjauhe madalsi ksylanaasin tavoin ruisjauhojen paisuntakäyrien viskositeetteja. Ksylanaasin kaltaista muutosta ruisnäytteiden paisuntakäyrissä mallasjauheet eivät kuitenkaan tuottaneet (kuva 11). Mallasjauheiden eri lisäysmäärien välillä nähtiin ruisjauhojen paisuntakäyrien alkuvaiheissa suurimmat erot, kun 3 % mallasjauheen lisäys tuotti huomattavasti matalamman alkukäyrän verrattuna 1 % mallasjauheen lisäykseen. Kummankin mallaspitoisuuden paisuntakäyrä laski lopussa kuitenkin lähes samoihin viskositeetilukemiin, joten merkittävää eroa ei mallaspitoisuuden kasvattamisella lopuksi ollut.

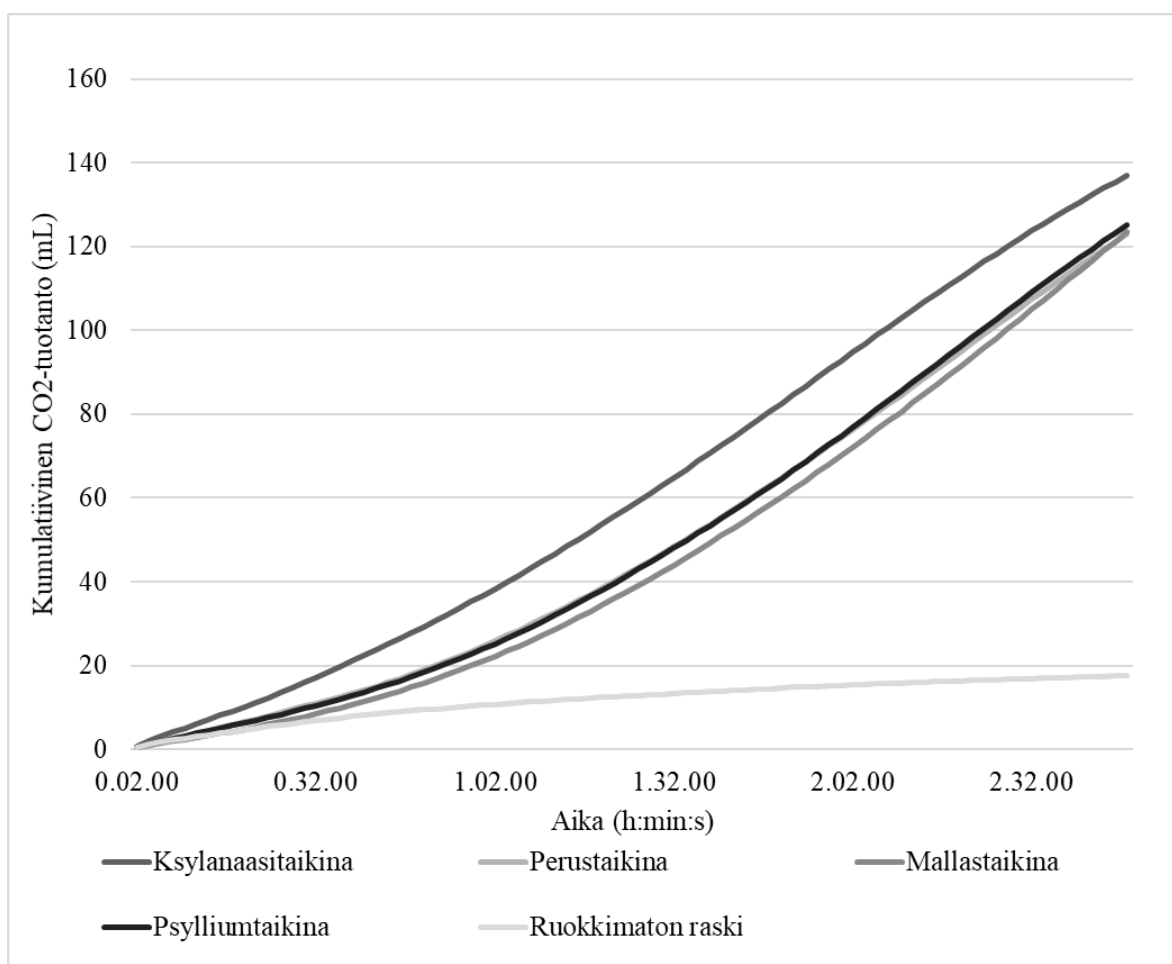
Raskin ja ruistaikinoiden hiilidioksidintuotanto

Ksylanaasi nopeutti ruistaikinan hiilidioksidintuotantoa (CO_2) mittauksen alussa (kuva 12). Tämä johtuu ksylanaasin kyvystä pilkkoa arabinoksyylaaneja pienemmiksi oligosakkarideiksi, joita raskissa olevat hiivat käyttävät ravinnokseen. Mallasjauhon ja psylliumin lisäykset eivät nopeuttaneet CO_2 -tuotantoa samalla tavalla, vaan niiden CO_2 -tuotantokäyrät seurasivat perustaikinan käyrää alusta noin 2,5 tuntiin asti. Tämän jälkeen mallastaikinan CO_2 -tuotanto jatkoi kasvuaan muiden jo alkaessa laskea. Ksylanaasiruistaikinan CO_2 -tuotanto alkoi laskea muita ennen jo noin kahden tunnin mittauksen jälkeen.

Ruistaikinoiden kumulatiiviset eli summautuvat CO_2 -tuotantokäyrät ovat keskenään hyvin samankaltaisia lukuun ottamatta ksylanaasiruistaikinan CO_2 -tuotantokäyrää, joka oli muita korkeampi (kuva 13). Ksylanaasi kasvatti risografin tulosten mukaan taikinan kokonaishiilidioksidintuotantoa, jota mallasjauhe ja psyllium eivät tehneet.



Kuva 12. Ksylanaasia, mallasjauhetta ja psylliumia sisältävien ruistaikinoiden sekä perusruistaikinan hiilidioksidintuotannon keskiarvojen kuvaaja.



Kuva 13. Ruokkimattoman raskin, perusruistaikinan ja ksylanaasia, mallasjauhetta ja psylliumia sisältävien ruistaikinoiden hiilidioksidintuotannon keskiarvot kumulatiivisesti kuvattuna.

3.2.2 Ruisleipien leivontalaatu pakastusta ennen ja sen jälkeen

Valkean renkaan esiintyminen ruisleivissä

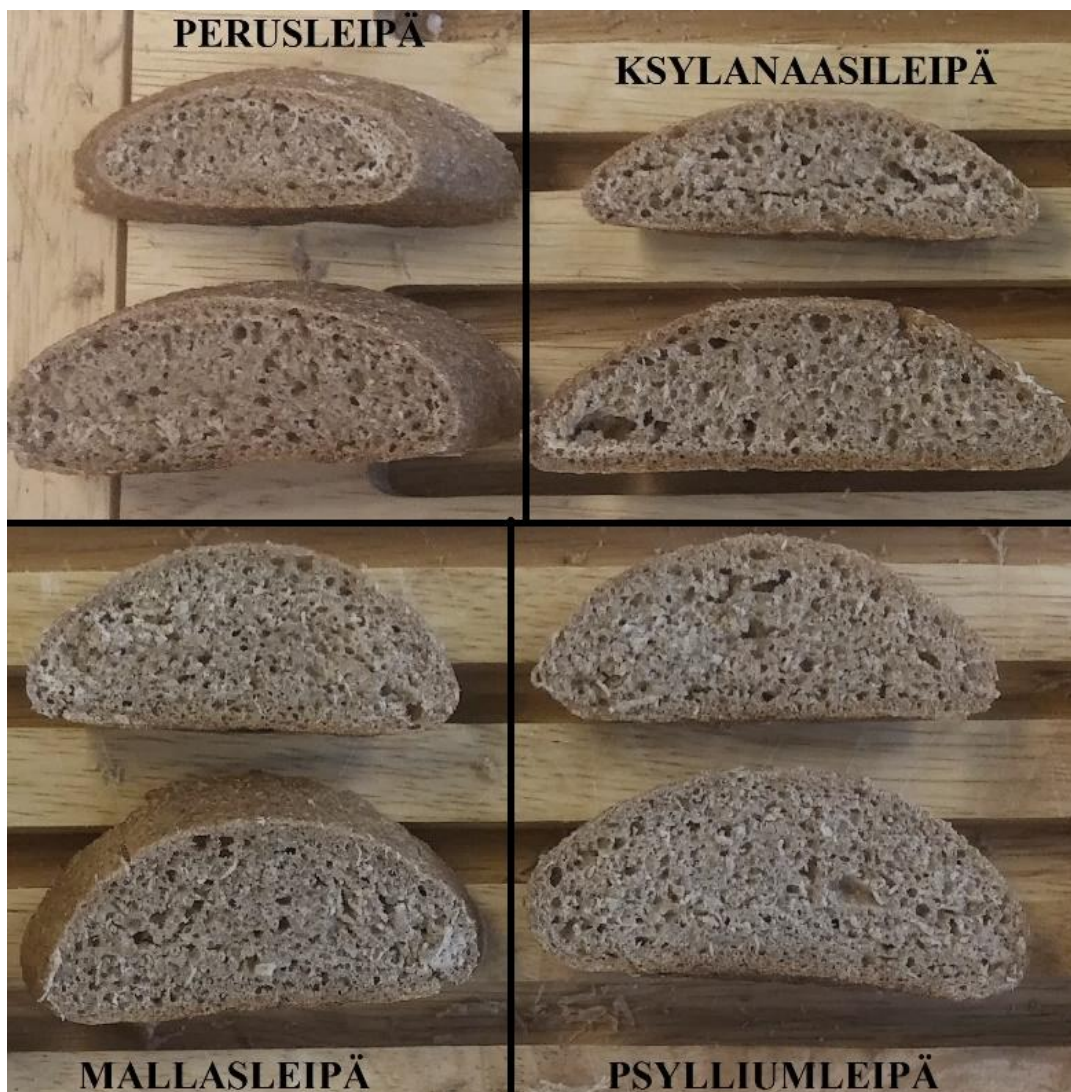
Valkea rengas on yksi näkyvimmistä pakastuksen aiheuttamista laatuvaurioista, joten sen aikaansaaminen ruisleipien kuoren alle oli tutkimuksen tärkeä ensimmäinen tavoite. Renkaan tuottamiseksi vertailtiin keskenään erilaisia pakastusolosuhteita ja pakkaustapoja. Valkea rengas saatiin parhaiten näkyviin esikokeissa säilyttämällä ruisleipiä kaksi viikkoa $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa avonaisissa minigrip-pusseissa. Rengas oli kooltaan muutamia millimetrejä leveä (kuva 14). Se sijaitsi pääosin ruispalaleipien kuoren alla päällä ja sivuilla, mutta sitä nähtiin myös pohjassa pakkasvarastointiajan pidentyessä. Ilmiö näkyi sitä selkeämmin, mitä kauemmin ruisleipiä säilytettiin $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa. Pakkasvarastointiajan ollessa tarpeeksi pitkä, ruisleivän sisällä oleva vesi pystyy liikkumaan kohti kuorta, jolloin valkea rengas voi kiertää koko leipää.



Kuva 14. Valkea rengas pakasteruisleivän kuoren alla.

Esikoeleivonnoissa tutkittiin myös ruistaikinoihin lisättyjen mallasjauheen, ksylanaasin ja psylliumin vaikutuksia samoissa olosuhteissa pakastettuihin verrokkiruisleipiin ($n=9/$) (kuva 15). Sekä ksylanaasi- että mallasruisleivissä näkyi perusruisleivän kaltaisesti valkeaa rengasta erityisesti ruisleivän sivuilla sekä kulmissa ja ksylanaasiruisleivissä myös

pohjissa. Psylliumruisleivissä valkeaa rengasta ei selkeästi näkynyt yhdenkään ruisleivän kuoren alla, vaikka vaaleampia kohtia leipien sisällä saattoikin erottaa. Näin ollen psyllium ehkäisi tehokkaimmin valkean renkaan muodostumisen sille otollisimmassa pakastuslämpötilassa ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) huolimatta sen muita ruisleipiä korkeammasta vesipitoisuudesta.



Kuva 15. Kaksi halkaistua leipää jokaisesta ruisleivonnasta (perus- ja ksylanaasiruisleivät ylärivissä, mallasjauhe- ja psylliumruisleipä alarivissä), jotka on pakastettu $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa valkean renkaan aikaansaamiseksi.

Ruisleipien paino, tilavuus, ominaistilavuus ja tiheys

Varsinaisten koeleivontojen ksylanaasiruisleivät olivat paiston sekä pakastuksen (-18 °C, 4 vko) jälkeen muihin leipiin verrattuna kevyimpiä (taulukko 13). Merkitseviä eroja ($p < 0,05$) syntyi ennen pakastusta ksylanaasi- ja mallasruisleivän sekä ksylanaasi- ja perusruisleivän välille sekä pakastuksen jälkeen ksylanaasiruisleivän ja mallas-, perus- ja psylliumruisleipien välille tilastollisesti tutkittaessa. Kaikkien ruisleipien painot laskivat pakastuksen yhteydessä veden haihtumisen seurauksena.

Taulukko 13. Ruisleipien painot, tilavuudet, ominaistilavuudet ja tiheydet sekä keskihajonnat ennen pakastusta ja pakastuksen jälkeen.

		Ksylanaasi- ruisleipä	Mallas- ruisleipä	Perus- ruisleipä	Psyllium- ruisleipä
Paino (g)	Ennen pakastusta	76,4	77,3	77,3	77,3
	Keskihajonta	1,4	0,8	0,8	0,9
	Pakastuksen jälkeen	75,8	76,8	77,0	76,9
	Keskihajonta	1,2	0,9	0,9	0,7
Tilavuus (ml)	Ennen pakastusta	127	124	126	123
	Keskihajonta	6	4	3	5
	Pakastuksen jälkeen	127	123	124	123
	Keskihajonta	6	4	4	5
Ominaistilavuus (ml/g)	Ennen pakastusta	1,7	1,6	1,6	1,6
	Keskihajonta	0,1	0,1	0	0,1
	Pakastuksen jälkeen	1,7	1,6	1,6	1,6
	Keskihajonta	0,1	0,1	0,1	0,1
Tiheys (kg/m ³)	Ennen pakastusta	60x10	62x10	62x10	63x10
	Keskihajonta	3x10	2x10	2x10	3x10
	Pakastuksen jälkeen	60x10	62x10	62x10	62x10
	Keskihajonta	3x10	2x10	2x10	3x10

Pakastaminen aiheutti suurimman tilavuuden pienenemisen perusruisleivällä (taulukko 13), mutta merkitsevä ero tilavuuksissa löytyi vain ksylanaasi- ja mallasruisleivän sekä ksylanaasi- ja psylliumruisleivän väliltä. Suurimmat tilavuudet paiston jälkeen löytyvät ksylanaasiruisleiviltä ja pienimmät puolestaan psylliumruisleiviltä. Ksylanaasiruisleipien tilavuudet olivat noin prosentin suurempia kuin perusruisleivillä paiston jälkeen, mutta pakastuksen jälkeen tilavuuksissa oli eroa jo 2,5 %. Psylliumruisleipien pienet tilavuudet johtuvat todennäköisesti erilaisesta reseptistä, jossa jauhoja vähennettiin. Pakastus vaikutti leipien tilavuuksiin pääsääntöisesti niitä pienentämällä, mutta ksylanaasi- ja psylliumruisleipien kohdalla tilavuuden pienenemistä ei havaittu pakastuksen aikana.

Tämä todennäköisesti johtuu psylliumin ja ksylanaasin aiheuttamasta ruisleivän vedensidontakyvyn kasvamisesta. Ominaistilavuudet olivat mallas-, perus- ja psylliumruisleivillä lähes samanlaiset, kun taas ksylanaasiruisleivillä ominaistilavuus oli suurempi. Myös tilastollisesti ksylanaasi- ja mallasruisleivillä sekä ksylanaasi- ja psylliumruisleivillä oli merkitsevä ero ominaistilavuuksissa.

Ruisleipien tiheyksissä, jotka kuvaavat myös huokoskokoa, löytyi ruisleipien välisiä eroja sekä paiston että pakastuksen jälkeen (taulukko 13). Ksylanaasia sisältävät ruisleivät olivat huokoisempia ja vähemmän tiheitä verrattuna muihin ruisleipiin. Niissä ei näkynyt pakastuksen aiheuttamia muutoksia yhtä selkeästi kuin muissa ruisleivissä. Suurimmat tiheydet löytyivät psylliumruisleivistä. Myös tiheyden mittauksessa ksylanaasi- ja mallasruisleipien sekä ksylanaasi- ja psylliumruisleipien välillä löytyi merkitseviä eroja. Pakastuksen jälkeisissä tiheyksissä löytyi lisäksi ksylanaasi- ja perusruisleipien välillä merkitsevä ero.

Ruisleipien painohäviö

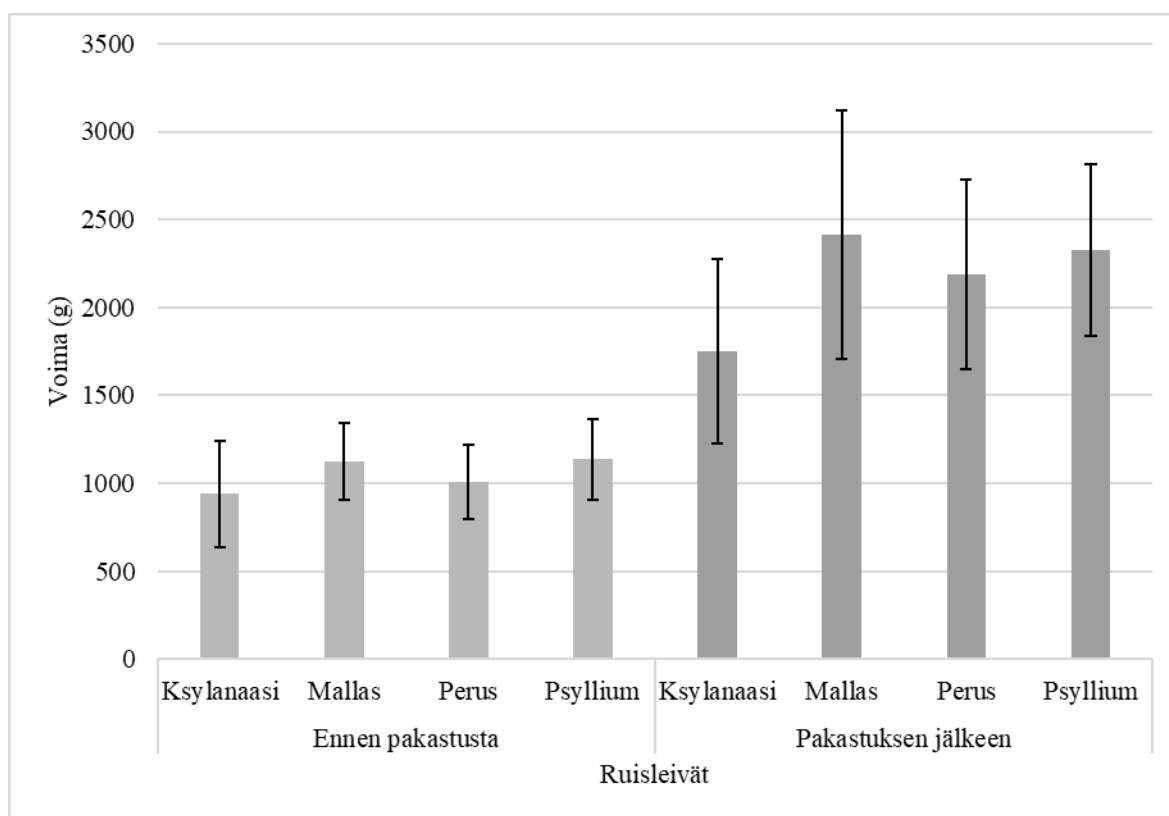
Ruisleipien paisto- ja pakastushäviöillä oli keskenään pieniä eroja (taulukko 14). Suurimman kokonaishäviön (15,9 %) tuotti ksylanaasia sisältävät ruisleivät, kun taas mallas-, perus- ja psylliumruisleivillä oli sama kokonaishäviö (14,7 %). Eniten eroa häviöissä syntyi paiston aikana (14,1-15,3 %), kun taas pakastuksen aikana suuria häviöeroja ei syntynyt (0,5-0,6 %). Perusruisleipään verrattuna ainoastaan ksylanaasiruisleivillä havaittiin paistohäviöissä merkitsevä ero. Samoin mallas- ja psylliumruisleipien ja ksylanaasiruisleivän paistohäviöiden väliltä löytyi merkitsevä ero. Mallas-, psyllium- ja perusruisleivän paistohäviöt olivat keskenään samaa tasoa. Pakastushäviöistä pienimmän tuotti psylliumruisleipä, mutta muilla ruisleivillä oli vain hieman suuremmat pakastushäviöt. Merkitsevää eroa ei eri ruisleipien pakastushäviöiden väliltä löytynyt.

Taulukko 14. Ruisleipien paisto- ja pakastushäviöiden keskiarvot ja keskihajonnat.

	Ksylanaasi- ruisleipä	Mallas- ruisleipä	Perusruisleipä	Psyllium- ruisleipä
Paistohäviö (%)	15,3	14,1	14,1	14,2
Keskihajonta	1,3	0,7	0,6	0,7
Pakastushäviö (%)	0,6	0,6	0,6	0,5
Keskihajonta	0,5	0,4	0,5	0,4
Painohäviö yhteensä (%)	15,9	14,7	14,7	14,7

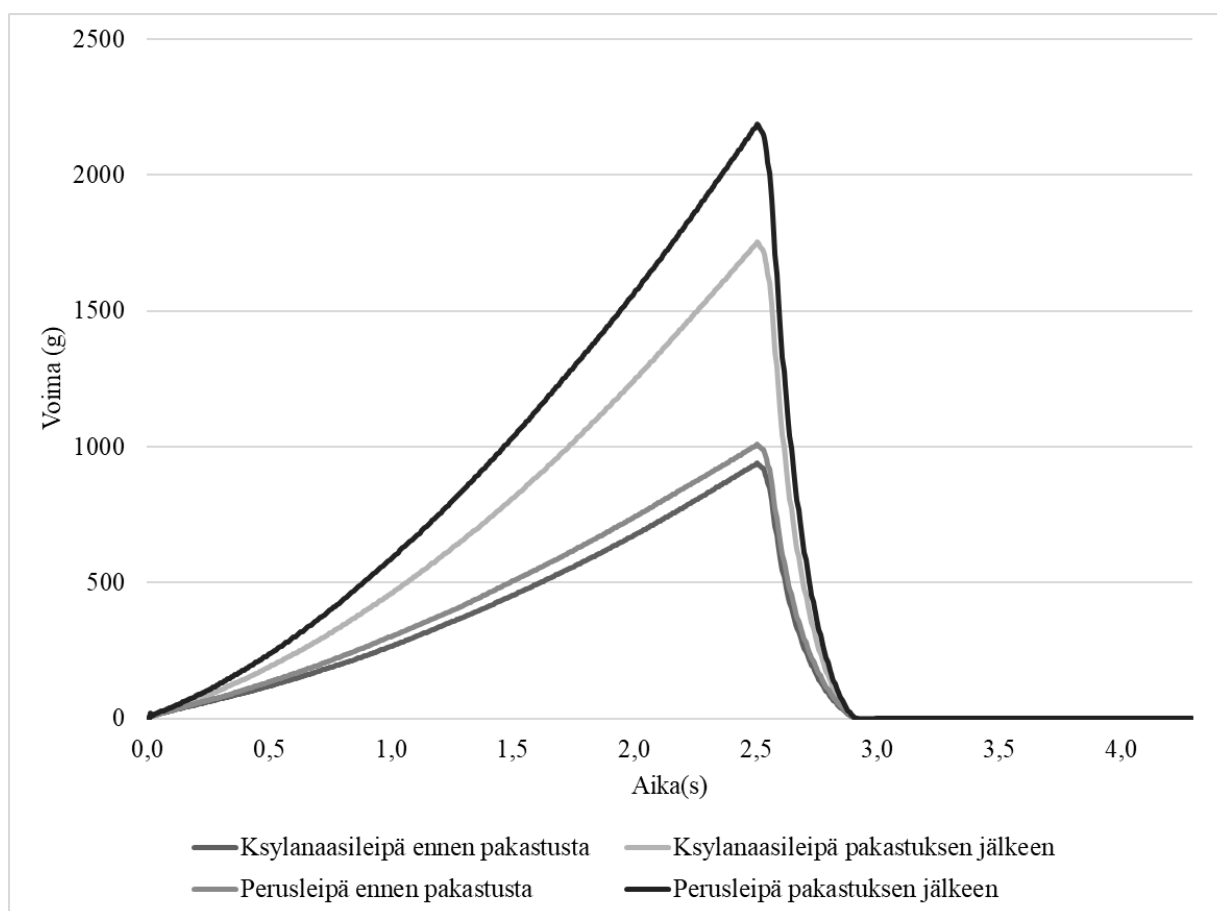
Ruisleipien kovuus

Ruisleipien kovuuksia kuvattiin niihin käytetyn voiman kautta. Suurimmat kovuudet havaittiin mallas- ja psylliumruisleivissä sekä ennen että jälkeen pakastuksen, kun taas ksylanaasiruisleiviltä löytyi pienimmät kovuudet molempina mittaukskertoina (kuva 16). Ennen pakastusta kovuuksien erot olivat kuitenkin pieniä ja merkitseviä eroja syntyi vain ksylanaasi- ja mallasruisleivän sekä ksylanaasi- ja psylliumruisleivän välille. Pakastuksen jälkeen erot suurenivat ja merkitsevä ero syntyi aikaisempien lisäksi myös ksylanaasi- ja perusruisleivän välille (kuvat 16 ja 17).



Kuva 16. Ruisleipien kovuudet ja keskihajonnat ennen ja jälkeen pakastuksen mitattuna Texture Analyserilla (koetin 36mm:n alumiinisylinteri ja vastus 30 kg:n voimakanno).

Ruisleipien kovuuden mittauksessa joidenkin ruisleipien kohdalla tuloksia on voinut vääristää ja keskihajontaa lisätä mittauskohdan kuoren repeily. Repeilykohdassa kuori on paksumpi ja kovempi, jolloin leipä on voinut mittauksien mukaan näyttää todellisuutta kovemmalta. Tämä ei kuitenkaan ole vaikuttanut pakastusta ennen ja sen jälkeen mitattujen kovuuksien suhteeseen, sillä kovuuden mittaukset on aina suoritettu samasta kohdasta. Näin ollen kuoren repeily ei ole vääristänyt pakastuksen vaikutusta ruisleipien kovuuteen. Ruisleipien kuoren repeily ei eronnut merkittävästi eri ruisleipäreseptien välillä silmämääräisesti katsottuna, joka olisi voinut olla häiriötekijä ruisleipien kovuuksia mitattaessa. Liitteenä 4 on esimerkkikuva leipien kuoren repeilystä.



Kuva 17. Ksylanaasi- ja perusruisleipien kovuuden mittausten keskiarvoista tehty kuvaaja (Texture Analyser, koetin 36mm:n alumiinisylinteri ja vastus 30 kg:n voimakkenno).

Ruisleipien happamuus

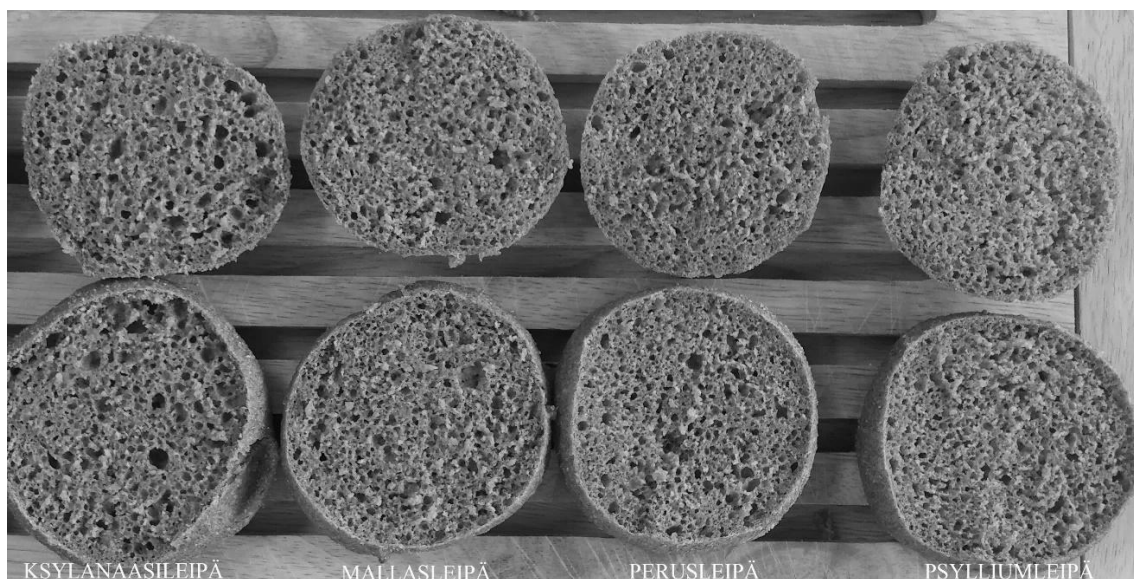
Ksylanaasiruisleiville mitattiin kaikista ruisleivistä korkeimmat happoluvut (11,6-12,0) (taulukko 15). Pienimmät happoluvut mitattiin puolestaan mallas- ja psylliumruisleiville (11,1-11,5). Kaikkien ruisleipien pH:t vaihtelivat 4,2-4,4 välillä, eikä suuria eroja syntynyt.

Taulukko 15. Ruisleipien happoluvut ja pH:t rinnakkaismittausten (n=2) keskiarvoina.

Mittauksen päivämäärä	Leipä	Happoluku	pH
21.4.2017	Perusruisleipä	11,5	4,3
	Ksylanaasiruisleipä	11,6	4,2
	Psylliumruisleipä	11,3	4,2
	Mallasruisleipä	11,1	4,3
26.5.2017	Perusruisleipä	11,6	4,3
	Ksylanaasiruisleipä	12	4,4
	Mallasruisleipä	11,5	4,3

Ruisleipien aistinvarainen arviointi

Ruisleipien aistinvaraiseen arviointiin kuului huokoskoon, kuoren värin ja repeilevyyden sekä ruisleipien maun arvioiminen. Arvioinnit suoritettiin paiston jälkeen jokaisen ruisleipäerän yhdestä leivästä ($n=3/\text{leipä}$). Ruisleivät leikattiin puoliksi leveyssuunnassa, jotta huokoskoot saataisiin parhaiten arvioitua (kuva 18).



Kuva 18. Ksylanasaasi-, mallas-, perus- ja psylliumruisleipä halkaistuna huokoskoon arviointia varten.

Ksylanasaasiruisleivillä oli kaikista suurimmat ja perusruisleivillä pienimmät huokoskoot (taulukko 16). Mallas- ja psylliumruisleipien huokoskoot sijoituivat puolestaan näiden kahden väliin huokoskoon arvioinnissa. Maun puolesta suurin ero huomattiin ksylanasaasiruisleivissä, jotka maistuivat muita happamammilta ja kirpeämmiltä. Mallas- ja psylliumruisleipien maut muistuttivat hyvin paljon perusruisleivän makua, eikä maltaista tai psylliumista johtuvia sivumakuja havaittu. Psylliumruisleivän rakenteen havaittiin kuitenkin eroavan muista ”kumimaisuudellaan”. Kuoren repeilyä esiintyi kaikilla ruisleivillä, mutta suurinta se oli ksylanasaasiruisleivillä kolmatta ksylanasaasiruisleipäerää vertailuun ottamatta keskeytyneen paiston vuoksi. Psylliumruisleipien kuoret puolestaan repeilivät vähiten.

Taulukko 16. Ruisleipien huokoskokojen, makujen ja kuoren repeilyn arviointitulokset.

Ruisleipä	Huokoskoko (ka.)	Maku	Kuoren repeily
Ksylanasaasi	5	Muita happamampi, hieman kirpeä maku	Repeily hieman muita voimakkaampaa
Mallas	6	Perusleivän kaltainen, ei maltaista sivumakua	Repeily toisiksi voimakkainta
Perus	7	Miellyttävä ruisleivän maku	Repeily tasaista ja maltillista
Psyllium	6	Psyllium ei vaikuttanut makuun, mutta teki sisuksen rakenteesta joustavamman ja ”kumimaisemman”	Repeily vähäisintä

3.3 POHDINTA

Kokeellisessa osiossa tutkittiin voidaanko pakasteruisleivän laadun heikkenemistä estää ruistaikinaan lisättävien ksylanaasin, mallasjauheen ja psylliumin avulla. Hypoteesina oli, että pakasteruisleipien laatua voidaan parantaa sitomalla leipien sisältämää vapaata vettä ja estää siten veden liike ruisleipien sisällä.

Pakkasvarastointilämpötila on yhdessä pakkasvarastointiajan kanssa merkittävä tekijä pakasteleivän laadun osalta. Käytännössä oli havaittu, että pitkään pakkasessa säilytettävien ruisleipien kuoren alle muodostuu valkea rengas, joka johtuu veden liikkeestä leivän sisäosista kohti kuorta. Tässä tutkimuksessa saatiin aikaan sama ilmiö varastoimalla ruisleipiä suosituslämpötilaa ($< -18\text{ °C}$) lämpimämmässä lämpötilassa (-10 °C). Jo kahdessa viikossa pakasteruisleipien kuoren alle ilmestyi selkeästi valkean renkaan muotoa. Samaa ilmiötä tutkinut Pence ym. (1958) ehdotti, että leipien sisältämä vapaa vesi liikkuu tärkkelysryövästen synnyttämiin ilma-aukkoihin kasvattaen jääkiteiden kokoa ja näin aiheuttaa suuria aukkoja jään sulaessa niistä pois. Suuret aukot leivän kuoren alla heijastavat paremmin valoa, mikä havaitaan valkeana renkaana leivän sulatuksen jälkeen.

Tutkittavista aineista ainoastaan psylliumin havaittiin vähentävän valkean renkaan muodostumista pakasteruisleipään ja tämän uskottiin johtuvan sen hydrokolloideille tyypillisestä korkeasta vedensidontakyvystä.

Ksylanaasi

Ksylanaasin käyttö tutkimuksessa perustui sen liukenemattomien arabinoksyalaanien pilkkomiskykyyn, jonka on tutkittu parantavan vehnäleivän tilavuutta, sisuksen rakennetta ja pehmeyttä, vähentävän pakastuksesta johtuvaa tilavuuden pienenemistä sekä parantavan pakastevehnäleivän laatua (Courtin ja Delcour 2002; Jiang ym. 2008).

Pakasteruisleipien rakenteeseen ja laatuun ksylanaasin käytön havaittiin tässä tutkimuksessa vaikuttavan monella eri tavalla. Ksylanaasin lisäys kasvatti merkitsevästi ruisleipien paistohäviötä, joka johtui ksylanaasiruistaikinan ja -raskin selvästi tavallista ruistaikinaa ja -raskia löysemmästä rakenteesta. Veden haihtumista edesauttoi ksylanaasin lisäyksen aiheuttama ruistaikinan leviäminen nostatuksessa ja paistossa. Sekä tilavuudet että ominaistilavuudet olivat ksylanaasiruisleivillä muita ruisleipiä suurempia, mikä on havaittu myös Courtinin ym. (1999), Courtin ja Delcourin (2002), Buttin ym. (2008) ja Jiangin ym. (2008) tutkimuksissa. Tilavuuden kasvu johtui ksylanaasin kyvystä pilkkoa liukenemattomia arabinoksyalaaneja liukoisiksi, jolloin myös taikinan viskositeetti kasvoi.

Liukenemattomien arabinoksyalaanien pilkkoutumisen myötä vettä jakautui uudelleen mm. tärkkelysfaasille tehden taikinasta löysempää ja pehmeämpää (Butt ym. 2008). Ksylaanaasin kyky kasvattaa liukoisten arabinoksyalaanien pitoisuutta nähtiin myös kokeellisen osion liukoisen pentosaanin mittauksessa. Ksylaanaasi lisäsi ruistaikinoiden hiilidioksidituotantoa erityisesti fermentaation alussa. Nopea hiilidioksidituotanto johtuu ksylaanaasin pilkkomista polysakkarideista, joita raskissa oleva hiiva käyttää ravinnokseen ja saa näin ollen aikaan paremmin kohoavan taikinan ja tilavuudeltaan suuremmat leivät. Tilavuuden kasvu (n. 1 %) ei ollut yhtä suurta kuin esimerkiksi Jiangilla ym. (2008), joilla ksylaanaasi kasvatti vehnäleipien tilavuutta jopa noin 30 %. Ksylaanaasilisäyksellä on voitu leivän tilavuuden suurentamisen lisäksi myös lyhentää fermentaation ja nostatuksen aikoja (Autio ym. 1996; Courtin ja Delcour 2002).

Ksylaanaasi ehkäisi pakkasvarastoinnissa tapahtuvaa tilavuuden pienenemistä ruisleivissä, mikä on nähty myös vehnäleivän pakkasvarastointitutkimuksissa (Jiang ym. 2008). Leivän vedensidonta paranee, kun ksylaanaasit lisäävät liukoisen arabinoksyalaanin pitoisuutta taikinassa. Vedensidonnan kasvusta johtuen vapaan veden määrä pienenee ja ruisleivästä haihtuu pakkasvarastoinnin aikana vähemmän vettä. Vapaan veden määrä leivässä on yksi merkittävimmistä laatuun vaikuttavista ominaisuuksista pakkasleivonnassa. Toisaalta liian suuri määrä ksylaanaasia voi johtaa taikinan ja leivän huonompiin laatuominaisuuksiin arabinoksyalaanin pilkkoutuessa oligosakkarideiksi (Courtin ja Delcour 2002).

Ksylaanaasin lisäys vähensi ruisleipien kovuutta ja lisäsi happamuutta. Sekä pakastusta ennen että sen jälkeen ksylaanaasiruisleivät olivat muita ruisleipiä pehmeämpiä huolimatta niiden suuresta painohäviöstä. Erityisesti pakkasvarastoinnin jälkeen ksylaanaasiruisleivät olivat merkittävästi muita leipiä pehmeämpiä. Mitä vähemmän ruisleipä kovenee pakkasvarastoinnin aikana, sitä kauemmin sitä voidaan myydä hyvänlaatuisena. Happolukumittausten perusteella ksylaanaasiruisleivät olivat hieman muita ruisleipiä happamampia ja myös aistinvaraisissa arvioinneissa maistuivat muita ruisleipiä happamammilta.

Ksylaanaasi paransi pakasteruisleipien laatua ja säilyvyyttä. Se tuotti pehmeämpiä ruisleipiä pakastuksen jälkeen ja kasvatti ruisleipien ominaistilavuutta ja makua. Tuotantoprosessissa ksylaanaasin käyttö voi kuitenkin tuottaa ongelmia taikinan löysyyttä ja tarttuvuutta kasvattamalla sekä paistohäviötä suurentamalla. Pakasteruisleipien laatua huonontavaa valkeaa rengasta ksylaanaasin lisäys ei ehkäissyt.

Mallas

Maltaat sisältävät tavallisiin jauhoihin verrattuna suuret määrät amylolyyttisiä entsyymejä, jotka pilkkovat tärkkelystä ja muita polysakkarideja muokaten taikinarakennetta ja hidastaen tärkkelyksen uuskitetyymistä (Corsetti ym. 2000; Goesart ym. 2009). Erityisesti idätettyjen rukiinjyvien α -amylaasien, endoksylyanaasien, β -ksylosidaasien ja α -arabinofuranosidaasien aktiivisuustasojen on mitattu olevan moninkertaisesti suurempia verrattuna idättämättömiin rukiinjyviin (Hansen ym. 2000). Ruismaltaan käytöllä toivottiin varsinkin ksylanaasientsyymien määrän kasvamista taikinassa ja sen kautta liukenemattomien arabinoksylyaanien pilkkoutumista liukenevaan muotoon.

Paisuntalukumittauksessa havaittiin, että mallasjauhe madalsi ruisjauhojen paisuntakäyrien viskositeetteja ksylanaasin kaltaisesti. Myös Marti ym. (2017) on havainnut, että maltaan lisääminen jopa pienillä pitoisuuksilla (0,5 %) laskee merkittävästi maksimiviskositeettia, mikä viittaa maltaan sisältämään suureen amylaasipitoisuuteen. Mallasjauheen vaikutus ei ollut tässä tutkimuksessa yhtä merkittävä ksylanaasiin verrattuna, eikä mallasjauheen pitoisuuden suurentaminen 1 %:sta 3 %:iin vaikuttanut loppuviskositeettiin lähes ollenkaan.

Mallasruisleivistä ei löytynyt merkitseviä leivontalaatueroja perusruisleipään verrattuna. Hiilidioksidituotannon mittauksessa mallastaikinan CO₂-tuotanto jatkoi kasvuaan kahden tunnin jälkeen viitaten mallasjauhon sisältäminen entsyymien hitaaseen aktivoitumiseen tai niiden vähyyteen. Tästä syystä positiivisia eroja ei näkynyt muissakaan pakasteruisleipien rakennetta ja laatua kuvaavissa mittauksissa. Päinvastoin mallasruisleivät vaikuttivat tilavuudeltaan pienemmiltä ja kovemmilta perusruisleipiin verrattuna toisin kuin Mäkisen ja Arendtin (2012) tutkimuksessa, jossa leipien tilavuus oli kasvanut maltaiden lisäyksestä johtuen. Tästä tutkimuksesta poiketen he olivat käyttäneet kauramallasta vehnäleivonnassa, jossa leivontaprosessi eroaa merkittävästi ruisleivonnasta. Esikokeissa mallasjauhoa lisättiin testimielessä myös ruisraskin joukkoon ennen fermentaatiota, mutta sekään ei parantanut pakasteruisleipien laatua.

Ruisjauhoissa on muita jauhoja enemmän α -amylaasiaktiivisuutta, jota hallitaan raskin käytöllä. Maltaissa amylaasiaktiivisuudet ovat myös suuret, joten todennäköisesti maltaiden käyttö ruisleivonnassa vain madaltaa jo valmiiksi muita leipiä matalampaa sakolukua. Korkean sakoluvun jauhot hyötyisivät näin ollen varmasti enemmän mallastuotteiden lisäyksestä taikinaan kuin matalan sakoluvun omaavat ruisjauhot.

Mallasjauheen käytöllä ei havaittu olevan positiivisia vaikutuksia pakasteruisleipien laatuun tai säilyvyyteen. Liiallisen amylaasiaktiivisuuden arveltiin tulosten pohjalta päinvastoin vaikuttavan negatiivisesti mallasruisleipien tilavuuteen ja kovuuteen, mutta merkitseviä eroja ei missään mittauksissa syntynyt mallas- ja perusruisleipien välille. Mallasjauhe ei kasvattanut tarpeeksi liukoisten arabinoksyylaaniin määrää ruisleivissä ja siten ruisleipien vedensidontakykyään ei kasvanut. Pakkasvarastoinnin aikana vapaan veden määrä ruisleivässä ei näin ollen vähentynyt eikä mallasjauhe ehkäissyt pakasteruisleipien laatua huonontavan valkean renkaan syntymistä.

Psyllium

Psylliumin avulla haluttiin tutkia hydrokolloidien vaikutusta pakasteruisleipien laatuun ja säilyvyyteen. Hydrokolloidien käyttö leivonnassa perustuu mm. niiden kykyyn kasvattaa leivän vedensidontaa, joka puolestaan pienentää vapaan veden määrää. Mitä vähemmän vapaata vettä on, sitä vähemmän leivästä haihtuu kosteutta paiston ja pakastuksen aikana ehkäisten kuivumista ja sisuksen kovettumista. Psylliumia käytetään erityisesti gluteenittomassa leivonnassa, jossa se nostaa taikinan viskositeettia ja muodostaa koheesiivisen helposti käsiteltävän taikinan. Tästä syystä sen oletettiin sopivan myös ruisleivontaan, sillä ruisleivonnassa gluteeniverkostoa ei synny vehnäleivonnassa tapaamaan.

Psylliumruisleivät olivat merkitsevästi kovempia ja tiheimpiä kuin ksylanaasiruisleivät, minkä lisäksi ne olivat muita ruisleipiä kumimaisempia. Cappa ym. (2013) totesivat, että psyllium voi lisätä leivän kovuutta, jos psylliumin pitoisuutta ja veden määrää ei ole optimoitu reseptissä. Tässä työssä psylliumin ja veden määrää ei optimoitu, vaan käytettiin psylliumpaketissa ollutta ohjeellista määrää. Psylliumruisleipien pakkasvarastoinnin painohäviö oli muita ruisleipiä pienempi, vaikka psylliumruisleivissä oli suhteessa enemmän vettä kuin muissa ruisleivissä.

Psylliumin käyttö ehkäisi valkean renkaan muodostumisen ruisleivissä vajavaisista pakastusolosuhteista huolimatta. Tämä kuvaa psylliumin voimakasta vedensidontakykyä hyvin, sillä ksylanaasin tai mallasjauheen lisäämisellä ei saatu samoja tuloksia. Psylliumin käyttö ruisleivissä, jotka joutuvat olemaan pitkään pakkasvarastoissa, voisi olla kannattavaa, sillä silloin renkaan muodostuminen estyisi tai ainakin hidastuisi verrattuna muihin ruisleipiin.

Psylliumin käyttö pakasteruisleivissä pienentää painohäviötä pakkasvarastoinnissa ja ehkäisee pakkasvarastoinnin aikana muodostuvan valkean renkaan syntyä, mutta tässä tutkimuksessa sen lisääminen ruistaikinaan kovetti ruisleivän rakennetta.

4 PÄÄTELMÄT

Tässä tutkielmassa pyrittiin löytämään keinoja vähentää pakasteruisleipien varastointiaikana syntyviä laatuvaurioita, kuten valkean renkaan muodostumista leivän kuoren alle. Työssä keskityttiin pääosin pakasteruisleipien veden liikkeen hidastamiseen leivän vedensidontakykyä kasvattamalla joko entsymaattisesti tai psylliumin avulla.

Tutkimuksessa löydettiin pakkasvarastointiolosuhteet (2 vko, -10°C), joissa valkea rengas saatiin aikaiseksi pakasteruisleivän kuoren alle. Psylliumin havaittiin olevan ainoa tutkituista aineista, joka ehkäisi valkean renkaan syntymisen tutkituissa olosuhteissa. Tämä johtui psylliumin kyvystä sitoa tehokkaasti vettä ja siksi varsinaisten leivontojen psylliumruisleivissä oli myös pienin pakastushäviö. Tutkimuksessa havaittiin psylliumin heikentävän pakasteruisleipien rakennetta. Psyllium ei parantanut ruisleipien tilavuutta tai pehmeyttä eikä vähentänyt rakenteen tiheyttä verrattuna verrokkiruisleipään. Psylliumin lisäysmäärää ei tässä tutkimuksessa kuitenkaan oltu optimoitu. Psyllium olisi helppo raaka-aine, sillä sen käyttö on vakiintunut gluteenittomassa leivonnassa.

Ruismallasjauhe ei parantanut pakasteruisleipien laatua tai säilyvyyttä. Ruismallasjauhe ei kasvattanut ruisleivän vedensidontakykyä, jolloin se ei hidastanut veden liikettä pakkasvarastoinnin aikana. Ksylanaasi puolestaan paransi pakasteruisleipien laatua ja säilyvyyttä eniten. Se paransi ruisleipien tilavuutta, happamuutta ja pakastuksen jälkeistä pehmeyttä sekä tuotti huokoisimmat leivät. Pakastusprosessi ei heikentänyt ksylanaasiruisleipien laatua yhtä paljon kuin muiden ruisleipien, mikä on merkittävä havainto. Ksylanaasin lisäys tuotti kuitenkin löysempiä ja tarttuvampia taikinoita ja lisäsi siksi ruisleipien painohäviöitä. Valkeaa rengasta ksylanaasin lisäys ei ehkäissyt toisin kuin psyllium.

Tämän tutkimuksen perusteella pakasteruisleipien pakkasvarastoinnista johtuvia laatuvaurioita olisi mahdollista vähentää ja pakkasvarastoinnin aikaa pidentää käyttämällä leivonnassa optimoituja määriä ksylanaasia tai psylliumia.

LÄHDELUETTELO

- [AACC] American Association of Cereal Chemists. 1981. AACC Method 44-15A. Moisture -- Air-Oven (Aluminum-Plate) Method. Approved Methods of Analysis, AACC International, St. Paul, MN, USA.
- [AACC] American Association of Cereal Chemists. AACC Method 56-81B. Determination of Falling Number. Approved Methods of Analysis, AACC International, St. Paul, MN, USA.
- [AACC] American Association of Cereal Chemists. AACC Method 76-21. General Pasting Method for Wheat or Rye Flour or Starch Using the Rapid Visco Analyser. Approved Methods of Analysis, AACC International, St. Paul, MN, USA.
- [AACC] American Association of Cereal Chemists. 2000. AACC method 94-09.01. Measurement of Bread Firmness by Universal Testing Machine. Approved Methods of Analysis, AACC International, St. Paul, MN, USA.
- Alais C, Linden G. 1991. Food biochemistry. New York: Ellis Horwood. 222 p.
- Almeida EL, Chang YK. 2012. Effect of the addition of enzymes on the quality of frozen pre-baked French bread substituted with whole wheat flour. *LWT - Food Sci Technol* 49(1):64-72.
- Almeida EL, Steel CJ, Chang YK. 2016. Par-baked Bread Technology: Formulation and Process Studies to Improve Quality. *Crit Rev Food Sci* 56(1):70-81.
- Aplevicz KS, Ogliari PJ, Sant'Anna ES. 2013. Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. *Bras J Pharm Sci* 49(2):233-239.
- Arendt EK, Morrissey A, Moore MM, Dal Bello F. 2008. Gluten-free breads. Teoksessa: Arendt EK, Dal Bello F, toim. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. 1. p. San Diego, California, USA: Academic Press. s 289-320.
- Arendt EK, Ryan LAM, Dal Bello F. 2007. Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiol* 24(2):165-174.
- Aune D, Keum N, Giovannucci E, Fadnes LT, Boffetta P, Greenwood DC, Tonstad S, Vatten LJ, Riboli E, Norat T. 2016. Whole grain consumption and risk of cardiovascular disease, cancer, and all cause and cause specific mortality: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ* 353:i2716.
- Autio K, Härkönen H, Parkkonen T, Frigård T, Poutanen K, Siika-Aho M, Åman P. 1996. Effects of Purified Endo- β -xylanase and Endo- β -glucanase on the Structural and Baking Characteristics of Rye Doughs. *LWT - Food Sci Technol* 29(1-2):18-27.
- Barber B, Ortol C, Barber S, Fernndez F. 1992. Storage of packaged white bread - III. Effects of sour dough and addition of acids on bread characteristics. *Z Lebensm Unters Forch* 194(5):442-449.
- Bárcenas ME, Benedito C, Rosell CM. 2004. Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. *Food Hydrocoll* 18(5):769-774.
- Bárcenas ME, Haros M, Benedito C, Rosell CM. 2003. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. *Food Res Int* 36(8):863-869.
- Bárcenas ME, Rosell CM. 2006. Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par-baked bread. *Food Chem* 95(3):438-445.
- Beck M, Jekle M, Selmair PL, Koehler P, Becker T. 2011. Rheological properties and baking performance of rye dough as affected by transglutaminase. *J Cereal Sci* 54(1):29-36.
- Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P. 2004. Cereal and Cereal Products. Teoksessa: Belitz H-D, Grosch W, Schieberle P, toim. *Food Chemistry*. 3.p. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: New-York, USA. s 673-746.
- Bengtsson S, Andersson R, Westerlund E, Aman P. 1992. Content, structure and viscosity of extractable arabinoxylans in rye grain from several countries. *J Sci Food Agr* 58(3):331-337.

- Biliaderis CG, Izydorczyk MS, Rattan O. 1995. Effect of arabinoxylans on bread-making quality of wheat flours. *Food Chem* 53(2):165-171.
- Blond G. 1988. Velocity of linear crystallization of ice in macromolecular systems. *Cryobiology* 25(1):61-66.
- Bourekoua H, Różyło R, Benatallah L, Wójtowicz A, Łysiak G, Zidoune MN, Sujak A. 2017. Characteristics of gluten-free bread: quality improvement by the addition of starches/hydrocolloids and their combinations using a definitive screening design. *Eur Food Res Technol*. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2960-9>.
- Brijs K, Trogh I, Jones BL, Delcour JA. 2002. Proteolytic enzymes in germinating rye grains. *Cereal Chem* 79(3):423-428.
- Brown H, Williams J, Kirwan M. 2011. Packaged product quality and shelf life. Teoksessa: Coles R, Kirwan M, toim. *Food and Beverage Packaging Technology*. 2. p. West-Sussex, Iso-Britannia: Wiley-Blackwell. s 59-83.
- Buksa K, Nowotna A, Praznik W, Gambus H, Ziobro R, Krawontka J. 2010. The role of pentosans and starch in baking of wholemeal rye bread. *Food Res. Int.* 43(8):2045-2051.
- Butt MS, Tahir-Nadeem M, Ahmad Z, Sultan MT. 2008. Xylanases and their applications in baking industry. *Food Technol Biotechnol* 46(1):22-31.
- Cappa C, Lucisano M, Mariotti M. 2013. Influence of Psyllium, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydr Polymers* 98(2):1657-1666.
- Cauvain SP. 1998. Improving the control of staling in frozen bakery products. *Trends Food Sci Technol* 9(2):56-61.
- Cauvain SP. 2014. Frozen Dough and Par-baked Products. Teoksessa: Zhou W, Hui YH, De Leyn I, Pagani MA, Rosell CM, Selman JD, Therdthai N, toim. *Bakery Products Science and Technology*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. s 523-537.
- Cauvain SP. 2015. Other Cereals in Breadmaking. Teoksessa: Cauvain SP, toim. *Technology of Breadmaking*. 2. p. Springer International Publishing. s 377-397.
- Cauvain SP, Young LS. 2000. Strategies for extending bakery product shelf-life. Teoksessa: Cauvain SP, Young LS, toim. *Bakery food manufacture and quality. Water control and effects*. Oxford, Iso-Britannia: Blackwell Science Ltd. s 188-205.
- Cauvain SP, Young LS. 2008. *Bakery Food Manufacture and Quality: Water Control and Effects*. 2.p. UK. Wiley-Blackwell. 304 s.
- Chavan RS, Chavan SR. 2011. Sourdough Technology-A Traditional Way for Wholesome Foods: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 10(3):169-182.
- Chen GC, Tong X, Xu JY, Han SF, Wan ZX, Qin JB, Qin LQ. 2016. Whole-grain intake and total, cardiovascular, and cancer mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr* 104(1):164-172.
- Chhabra P, Sidhu JS. 1988. Fate of phytic acid during bread making. *Nahrung* 32(1):15-19.
- Clarke CJ, Buckley SL, Lindner N. 2002. Ice structuring proteins – A new name for antifreeze proteins. *CryoLetters* 23(2):89-92.
- Corsetti A, Gobetti M, Balestrieri F, Paoletti F, Russi L, Rossi J. 1998. Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. *J Food Sci* 63(2):347-351.
- Corsetti A, Gobetti M, De Marco B, Balestrieri F, Paoletti F, Russi L, Rossi J. 2000. Combined effect of sourdough lactic acid bacteria and additives bread firmness and staling. *J Agric Food Chem* 48(7):3044-3051.
- Courtin CM, Delcour JA. 1998. Physicochemical and Bread-Making Properties of Low Molecular Weight Wheat-Derived Arabinoxylans. *J Agric Food Chem* 46(10):4066-4073.
- Courtin CM, Delcour JA. 2002. Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *J Cereal Sci* 35(3):225-243.

- Courtin CM, Roelants A, Delcour JA. 1999. Fractionation-reconstitution experiments provide insight into the role of endoxylanases in bread-making. *J Agric Food Chem* 47(5):1870-1877.
- Crowley P, Schober TJ, Clarke CI, Arendt EK. 2002. The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *Eur Food Res Technol* 214(6):489-496.
- Curic D, Novotni D, Skevin D, Rosell CM, Collar C, Le Bail A, Colic-Baric I, Gabric D. 2008. Design of a quality index for the objective evaluation of bread quality: Application to wheat breads using selected bake off technology for bread making. *Food Res Int* 41(7):714-719.
- Czuchajowska Z, Paszczynska B, Pomeranz Y. 1992. Functional properties of psyllium in wheat-based products. *Cereal Chem* 69(5):516-520.
- Czuchajowska Z, Pomeranz Y. 1989. Differential scanning calorimetry, water activity, and moisture contents in crumb center and near-crust zones of bread during storage. *Cereal Chem* 66(4):305-309.
- Dallmann H. 1981. Porentabelle. Verlag Moritz Schäfer, Detmold. 8 s.
- De Angelis M, Rizzello CG, Alfonsi G, Arnault P, Cappelle S, Di Cagno R, Gobbetti M. 2007. Use of sourdough lactobacilli and oat fibre to decrease the glycaemic index of white wheat bread. *Brit J Nutr* 98(6):1196-1205.
- Delcour JA, Hoseney RC. 2010. Principles of cereal science and technology. 3. p. St. Paul, MN, USA: AACC International, Inc. 280 s.
- Denli E, Ercan R. 2001. Effect of added pentosans isolated from wheat and rye grain on some properties of bread. *Eur Food Res Technol* 212(3):374-376.
- Di Cagno R, De Angelis M, Corsetti A, Lavermicocca P, Arnault P, Tossut P, Gallo G, Gobbetti M. 2003. Interactions between sourdough lactic acid bacteria and exogenous enzymes: Effects on the microbial kinetics of acidification and dough textural properties. *Food Microbiol* 20(1):67-75.
- Di Cagno R, De Angelis M, Limitone A, Minervini F, Carnevali P, Corsetti A, Gaenzle M, Ciati R, Gobbetti M. 2006. Glucan and fructan production by sourdough *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*. *J Agric Food Chem* 54(26):9873-9881.
- Dornez E, Gebruers K, Delcour JA, Courtin CM. 2009. Grain-associated xylanases: occurrence, variability, and implications for cereal processing. *Trends Food Sci Technol* 20(11-12):495-510.
- Döring C, Hussein MA, Jekle M, Becker T. 2017. On the assessments of arabinoxylan localization and enzymatic modifications for enhanced protein networking and its structural impact on rye dough and bread. *Food Chem* 229:178-187.
- Döring C, Nuber C, Stukenborg F, Jekle M, Becker T. 2015. Impact of arabinoxylan addition on protein microstructure formation in wheat and rye dough. *J Food Eng* 154:10-16.
- Eliasson AC, Gudmundsson M. 2006. Starch: physicochemical and functional aspects. Teoksessa: Eliasson AC, toim. Carbohydrates in Food. 2. p. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. s 391-470.
- Esteve CC, De Barber CB, Martinez-Anaya MA. 1994. Microbial Sour Doughs Influence Acidification Properties and Breadmaking Potential of Wheat Dough. *J Food Sci* 59(3):629-633.
- Euroopan Komissio, Regulation No 432/2012. 2012. Official Journal of the European Union, L136/1. Saatavilla: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012R0432&from=EN>
- Evira. 2015. Viljasadon laatu 2015. Saatavilla: https://www.evira.fi/kasvit/viljely-ja-tuotanto/viljan-laatu/tilastot-viljasadon-laadusta/viljasadon_laatu_2015/. Viitattu 15.11.2016.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. FAOSTAT Data: Crops. Saatavilla: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Viitattu 7.11.2017.
- Fik M, Macura R. 2001. Quality changes during frozen storage and thawing of mixed bread. *Die Nahrung* 45(2):138-142.

- Fik M, Surwka K. 2002. Effect of prebaking and frozen storage on the sensory quality and instrumental texture of bread. *J Sci Food Agric* 82(11):1268-1275.
- Fretzdorff B, Brümmer J. 1992. Reduction of Phytic Acid During Breadmaking of Whole-Meal Breads. *Cereal Chem* 69(3):266-270.
- Galal AM, Varriano-Marston E, Johnson JA. 1978. Rheological Dough Properties as Affected by Organic Acids and Salt. *Cereal Chem* 55(5):683-691.
- Glitsø LV, Bach Knudsen KE. 1999. Milling of whole grain rye to obtain fractions with different dietary fibre characteristics. *J Cereal Sci* 29(1):89-97.
- Gobbetti M, Corsetti A, Rossi J. 1995. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in sour-dough using a rheofermentometer. *World J Microb Biot* 11(6):625-630.
- Goesaert H, Slade L, Levine H, Delcour JA. 2009. Amylases and bread firming – an integrated view. *J Cereal Sci* 50(3):345-352.
- Graf E, Eaton JW. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic Biol Med* 8(1):61-69.
- Gray JA, Bemiller JN. 2003. Bread staling: Molecular basis and control. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2(1):1-21.
- Guarda A, Rosell CM, Benedito C, Galotto MJ. 2004. Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. *Food Hydrocoll* 18(2):241-247.
- Gül H, Özçelîc S, Sağdıç O, Certel M. 2005. Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochem* 40(2):691-697.
- Gänzle MG, Ehmann M, Hammes WP. 1998. Modeling of growth of *lactobacillus sanfranciscensis* and *candida milleri* in response to process parameters of sourdough fermentation. *Appl Environ Microb* 64(7):2616-2623.
- Hamdami N, Monteau J-Y, Le Bail A. 2004. Simulation of coupled heat and mass transfer during freezing of a porous humid matrix. *Int J Refrig* 27(6):595-603.
- Hamdami N, Pham QT, Le-Bail A, Monteau J-Y. 2007. Two-stage freezing of part baked breads: Application and optimization. *J Food Eng* 82(4):418-426.
- Hammes WP, Gänzle M. 1998. Sourdough breads and related products. Teoksessa: Woods BJB, toim. *Microbiology of Fermented Foods*. Lontoo: Blackie Academic/Professional. s 199-216.
- Hammes WP, Stolz P, Gänzle M. 1996. Metabolism of lactobacilli in traditional sourdoughs. *Adv Food Sci* 18(5-6):176-184.
- Hammes WP, Brandt MJ, Francis KL, Rosenheim J, Seitter MFH, Vogelmann SA. 2005. Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends Food Sci Technol* 16(1-3):4-11.
- Hansen A, Lund B, Lewis MJ. 1989. Flavour of sourdough rye bread crumb. *LWT - Food Sci Technol* 22(4):141-144.
- Hansen RH. 1998. The antimicrobial effect of organic acids, sour dough and nisin against *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* isolated from wheat bread. *J Appl Microbiol* 85(3):621-631.
- Hansen HB, Hansen Å, Larsen LM. 2000. Activity of endogenous α -amylase and cell-wall degrading enzymes in germinating rye (*Secale Cereale L.*). *VTT Symposium* 207:233-237.
- He H, Hosney RC. 1990. Changes in Bread Firmness and Moisture During Long-Term Storage. *Cereal Chem* 67(6):603-605.
- Heiniö R-L, Katina K, Wilhelmson A, Myllymäki O, Rajamäki T, Latva-Kala K, Liukkonen K-, Poutanen K. 2003. Relationship between sensory perception and flavour-active volatile compounds of germinated, sourdough fermented and native rye following the extrusion process. *LWT - Food Sci Technol* 36(5):533-545.

- Heiniö R. 2003. Influence of processing on the flavour formation of oat and rye [sähköinen julkaisu]. VTT Publ. (494). Saatavilla: http://www.helsinki.fi/elintarvike-ja-ymparisto/opiskelu/TTO_6_painos.pdf. Tulostettu 24.8.2017.
- Hellemann U, Powers JJ, Salovaara H, Shinholser K, Ellil M. 1988. Relation of sensory sourness to chemically analyzed acidity in wholemeal sour rye bread. *J Sens Stud* 3(2):95-111.
- Henrissat B, Coutinho PM. 2001. Classification of glycoside hydrolases and glycosyltransferases from hyperthermophiles. *Meth Enzymol* 330:183-201.
- Henry RJ. 1987. Pentosan and (1 → 3),(1→4)-β-glucan concentrations in endosperm and wholegrain of wheat, barley, oats and rye. *J Cereal Sci* 6(3):253-258.
- Hoseney RC. 1994. Principles of Cereal Science and Technology. 2. p. toim. St. Paul, Minnesota, USA: AACC International, Inc. 378 s.
- Hug-Iten S, Escher F, Conde-Petit B. 2003. Staling of bread: role of amylose and amylopectin and influence of starch-degrading enzymes. *Cereal Chem* 80(6):654-661.
- Izydorczyk MS, Biliaderis CG. 1992. Effect of molecular size on physical properties of wheat arabinoxylan. *J Agric Food Chem* 40(4):561-568.
- Izydorczyk MS, Biliaderis CG. 1995. Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties. *Carbohydr Polym* 28(1):33-48.
- Jiang Z, Le Bail A, Wu A. 2008. Effect of the thermostable xylanase B (XynB) from *Thermotoga maritima* on the quality of frozen partially baked bread. *J Cereal Sci* 47(2):172-179.
- Jussila A. 2014. Kylmä- ja pakasteleivonta ruokaleipien valmistuksessa. *Leipurilehti* 224-226.
- Kaleda A, Tsanev R, Klesment T, Vilu R, Laos K. 2018. Ice cream structure modification by ice-binding proteins. *Food Chem* 246:164-171.
- Kariluoto S, Vahteristo L, Salovaara H, Katina K, Liukkonen K-H, Piironen V. 2004. effect of baking method and fermentation on folate content of rye and wheat breads. *Cereal Chem* 81(1):134-139.
- Katina K, Poutanen K, Autio K. 2004. Influence and interactions of processing conditions and starter culture on formation of acids, volatile compounds, and amino acids in wheat sourdoughs. *Cereal Chem* 81(5):598-610.
- Katina K, Salmenkallio-Marttila M, Partanen R, Forssell P, Autio K. 2006. Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. *LWT - Food Sci Technol* 39(5):479-491.
- Kay RM. 1982. Dietary fiber. *J Lipid Res* 23(2):221-242.
- Khan K, Shewry PR. 2009. Wheat: Chemistry and Technology. 4. p. St. Paul, USA: AACC International. 467 s.
- Kim SK, D'apponia BL. 1977. Effect of pentosans on the retrogradation of wheat starch gels. *Cereal Chem* 54(1):150-160.
- Kontogiorgos V, Regand A, Yada RY, Goff HD. 2007. Isolation and characterization of ice structuring proteins from cold-acclimated winter wheat grass extract for recrystallization inhibition in frozen foods. *J Food Biochem* 31:139-160.
- Korakli M, Gänzle MG, Vogel RF. 2002. Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J Appl Microbiol* 92(5):958-965.
- Kühn MC, Grosch W. 1989. Baking functionality of reconstituted rye flours having different nonstarchy polysaccharide and starch contents. *Cereal Chem* 66(3):149-154.
- Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS, Becker K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem* 120(4):945-959.

- Le-Bail A, Dessev T, Jury V, Zuniga R, Park T, Pitroff M. 2010. Energy demand for selected bread making processes: Conventional versus part baked frozen technologies. *J Food Eng* 96(4):510-519.
- Le Bail A, Monteau JY, Margerie F, Lucas T, Chargelegue A, Reverdy Y. 2005. Impact of selected process parameters on crust flaking of frozen partly baked bread. *J Food Eng* 69(4):503-509.
- Lee MH, Baek MH, Cha DS, Park HJ, Lim ST. 2002. Freeze-thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums. *Food Hydrocoll* 16(4):345-352.
- Leipätiedotus. Pakasteleivonta. Viitattu 30.1.2017. Saatavilla: <http://www.leipätiedotus.fi/tietoa-leivasta/leipa-elintarvikkeena/leivan-valmistus/leipien-valmistustavat/pakasteleivonta.html>
- Leuschner RGK, O'Callaghan MJA, Arendt EK. 1997. Optimization of baking parameters of part-baked and rebaked Irish brown soda bread by evaluation of some quality characteristics. *Int J Food Sci Technol* 32(6):487-493.
- Liljeberg HGM, Lonner CH, Bjorck IME. 1995. Sourdough fermentation or addition of organic acids or corresponding salts to bread improves nutritional properties of starch in healthy humans. *J Nutr* 125(6):1503-1511.
- Lucas T, Quellec S, Le Bail A, Davenel A. 2005. Chilling and freezing of part-baked bread. Part II: Experimental assessment of water phase changes and structure collapse. *J Food Eng* 70(2):151-164.
- LUKE 2015. Sato ja viljasadon laatu 2015. Viitattu 9.9.2016. Saatavilla: http://stat.luke.fi/sato-ja-viljasadon-laatu-2015_fi
- Maioli M, Pes GM, Sanna M, Cherchi S, Dettori M, Manca E, Farris GA. 2008. Sourdough-leavened bread improves postprandial glucose and insulin plasma levels in subjects with impaired glucose tolerance. *Acta Diabetol* 45(2):91-96.
- Majzoobi M, Farahnaky A, Agah S. 2011. Properties and shelf-life of part-and full-baked flat bread (Barbari) at ambient and frozen storage. *J Agri Sc Tech* 13(SUPPL.):1077-1090.
- Maleki M, Hoseney RC, Mattern PJ. 1980. Effects of loaf volume, moisture content, and protein quality on the softness and staling rate of bread. *Cereal Chem* 57:138-140.
- Mandala IG. 2005. Physical properties of fresh and frozen stored, microwave-reheated breads, containing hydrocolloids. *J Food Eng* 66(3):291-300.
- Marti A, Cardone G, Nicolodi A, Quaglia L, Pagani MA. 2017. Sprouted wheat as an alternative to conventional flour improvers in bread-making. *LWT – Food Sci Tech* 80:230-236.
- Matz SA. 1991. The chemistry and technology of cereals as food and feed. 2. p. New York: Van Nostrand Reinhold. 751 s.
- McNeil M, Albersheim P, Taiz L, Jones RL. 1975. The Structure of Plant Cell Walls: VII. Barley Aleurone Cells. *Plant Physiol* 55(1):64-68.
- Meroth CB, Hammes WP, Hertel C. 2003. Identification and population dynamics of yeasts in sourdough fermentation processes by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl Environ Microb* 69(12):7453-7461.
- Michniewicz J, Biliaderis GG, Bushuk W. 1992. Effect of added pentosans on some properties of wheat bread. *Food Chem* 43(4):251-257.
- Mihhalevski A, Heinmaa I, Traksmäa R, Pehk T, Mere A, Paalme T. 2012. Structural changes of starch during baking and staling of rye bread. *J Agric Food Chem* 60(34):8492-8500.
- Miles MJ, Morris VJ, Orford PD, Ring SG. 1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydr Res* 135(2):271-281.
- Moore MM, Juga B, Schober TJ, Arendt EK. 2007. Effect of lactic acid bacteria on properties of gluten-free sourdoughs, batters, and quality and ultrastructure of gluten-free bread. *Cereal Chem* 84(4):357-364.
- Moore MM, Schober TJ, Dockery P, Arendt EK. 2004. Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. *Cereal Chem* 81(5):567-575.

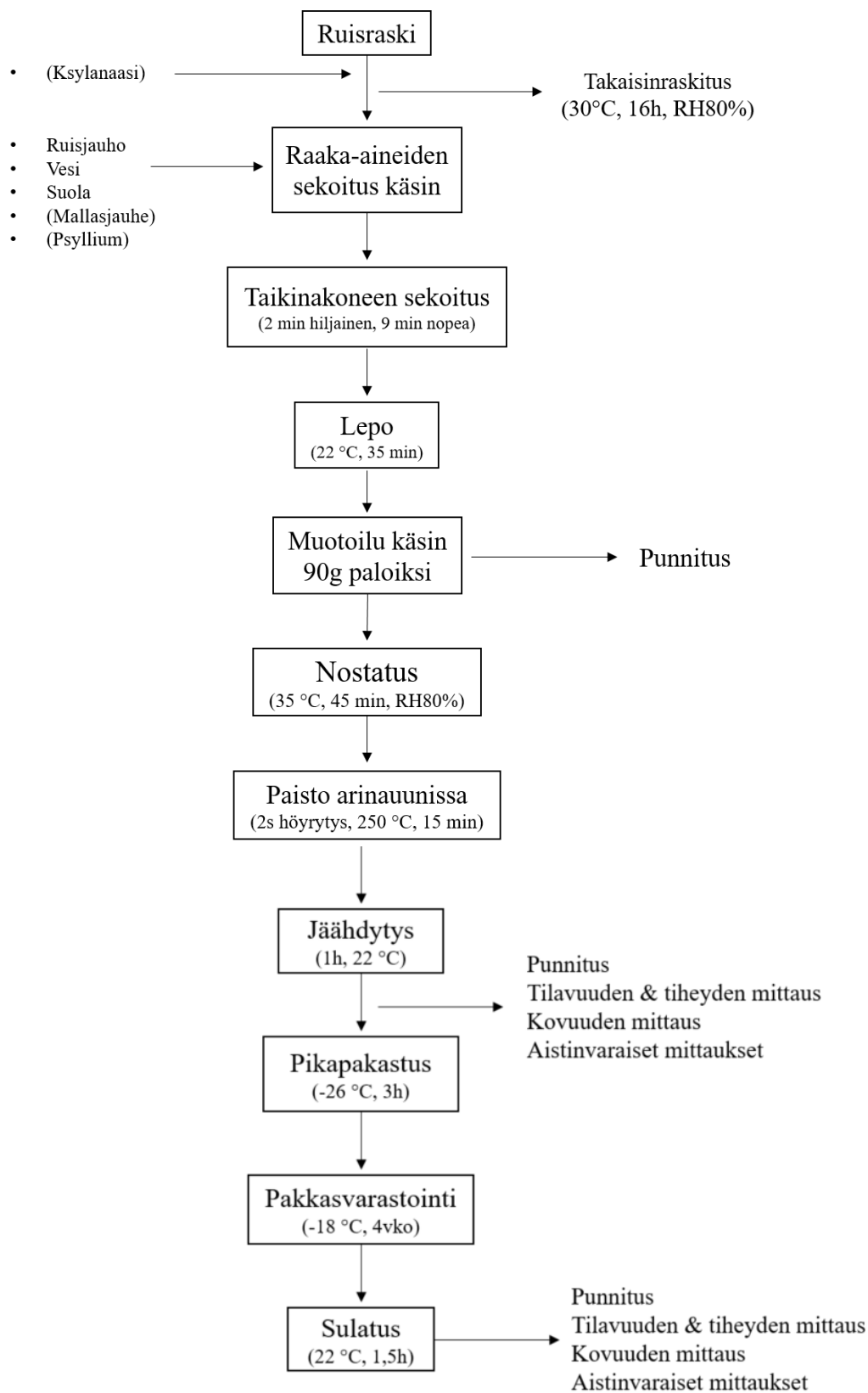
- Morris SA. 2011. Food preservation and shelf life. Teoksessa: Morris SA, toim. Food and Package Engineering. Oxford, Iso-Britannia: Wiley-Blackwell. s 253-297.
- Murakami Y, Yokoigawa K, Kawai F, Kawai H. 1996. Lipid composition of commercial bakers' yeasts having different freeze- tolerance in frozen dough. Biosci Biotechnol Biochem 60(11):1874-1876.
- Mäkinen OE, Arendt EK. 2012. Oat malt as a baking ingredient - A comparative study of the impact of oat, barley and wheat malts on bread and dough properties. J Cereal Sci 56(3):747-753.
- Mäkinen OE, Zannini E, Arendt EK. 2013. germination of oat and quinoa and evaluation of the malts as gluten free baking ingredients. Plant Foods Hum Nutr 68(1):90-95.
- Niku-Paavola M-L, Laitila A, Mattila-Sandholm T, Haikara A. 1999. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. J Appl Microbiol 86(1):29-35.
- Nilsson M, Holst JJ, Björck IME. 2007. Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: Studies using glucose-equivalent drinks. Am J Clin Nutr 85(4):996-1004.
- Novotni D, Cukelj N, Smerdel B, Bituh M, Dujmic F, Curic D. 2012. Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough. J Cereal Sci 55(2):120-125.
- Novotni D, Ćurić D, Galić K, Škevin D, Neđeral S, Kraljić K, Gabrić D, Ježek D. 2011. Influence of frozen storage and packaging on oxidative stability and texture of bread produced by different processes. LWT - Food Sci Technol 44(3):643-649.
- Patil SK, Tsen CC, Lineback DR. 1975. Water-soluble pentosans of wheat flour. II. Characterization of pentosans and glycoproteins from wheat flour and dough mixed under various conditions [sähköinen julkaisu]. AACCC, Saatavilla: https://www.aaccnet.org/publications/cc/backissues/1975/Documents/Chem52_44.pdf. Viitattu: 27.11.2017.
- Pence JW, Standridge NN. 1955. Effect of storage temperature and freezing on the firming of a commercial bread. Cereal Chem 32:519-526.
- Pence JW, Standridge NN, Black DR, Jones FT. 1958. White rings in frozen bread. Carbohydr Polym 35:15-26.
- Poutanen K, Flander L, Katina K. 2009. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. Food Microbiol 26(7):693-699.
- Pyler EJ, Gorton LA. 2008. Baking Science and Technology. Volume 2: Formulation and Production. 4. p. Kansas, USA: Sosland Publishing Co. 782 s.
- Ragaee SM, Campbell GL, Scoles GJ, McLeod JG, Tyler RT. 2001. Studies on rye (*Secale cereale* L.) lines exhibiting a range of extract viscosities. 1. Composition, molecular weight distribution of water extracts, and biochemical characteristics of purified water-extractable arabinoxylan. J Agric Food Chem 49(5):2437-2445.
- Rasmussen CV, Boskov Hansen H, Hansen A, Melchior Larsen L. 2001. pH-, temperature- and time-dependent activities of endogenous endo- β -D-xylanase, β -D-xylosidase and α -L-arabinofuranosidase in extracts from ungerminated rye (*Secale cereale* L.) grain. J Cereal Sci 34(1):49-60.
- Rohrlich M, Hertel W. 1966. Investigation of protein degradation in sour dough (saksaksi). Brot Gebäck 20:109-113.
- Ronda F, Caballero PA, Quilez J, Roos YH. 2011. Staling of frozen partly and fully baked breads. Study of the combined effect of amylopectin recrystallization and water content on bread firmness. J Cereal Sci 53(1):97-103.
- Ronda F, Quilez J, Pando V, Roos Y. 2014. Fermentation time and fiber effects on recrystallization of starch components and staling of bread from frozen part-baked bread. J Food Eng 131:116-123.
- Ronda F, Roos YH. 2008. Gelatinization and freeze-concentration effects on recrystallization in corn and potato starch gels. Carbohydrate Res 343(5):903-911.
- Roos YH, Drusch S. 2016. Phase Transitions in Foods. 2. p. Oxford, UK: Elsevier. 380 s.

- Rosell CM, Santos E. 2010. Impact of fibers on physical characteristics of fresh and staled bake off bread. *J Food Eng* 98(2):273-281.
- Rosenqvist H, Hansen Å. 1998. The antimicrobial effect of organic acids, sour dough and nisin against *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* isolated from wheat bread. *J Appl Microbiol* 85(3):621-631.
- Räsänen J. 1998. Prefermented frozen lean wheat doughs. Dissertation. VTT. Viitattu 25.11.2016. Saatavilla <http://www.vtt.fi/inf/pdf/publications/1998/P352.pdf>
- Räsänen R, Blanshard J, Siitari-Kauppi M, Autio K. 1997. Water distribution in frozen lean wheat doughs. *Cereal Chem* 74(6):806-813.
- Saastamoinen M, Plaami S, Kumpulainen J. 1989. Pentosan and β -glucan content of finnish winter rye varieties as compared with rye of six other countries. *J Cereal Sci* 10(3):199-207.
- Sabanis D, Tzia C. 2011. Selected structural characteristics of hpmc-containing gluten free bread: a response surface methodology study for optimizing quality. *Int J Food Prop* 14:417-431.
- Saghir S, Iqbal MS, Hussain MA, Koschella A, Heinze T. 2008. Structure characterization and carboxymethylation of arabinoxylan isolated from Ispaghula (*Plantago ovata*) seed husk. *Carbohydr Polym* 74(2):309-317.
- Saini HS, Henry RJ. 1989. Fractionation and evaluation of triticale pentosans: comparison with wheat and rye. *Cereal Chem* 66(1):11-14.
- Salovaara H, Gänzle M. 1998. Lactic acid bacteria in cereal-based products. Teoksessa: Salminen S, Von Wright A, toim. Lactic acid Bacteria-Microbiology and Functional Aspects. 2. p. New York: Marcel Dekker. s 115-137.
- Salovaara H, Ignatius A, Jussila A, Hurri-Martikainen M. 2017. Leivonnan teknologia – Ruokaleipä. Helsinki: Suomen Leipuriiliitto ry. 295 s.
- Salovaara H, Spicher G. 1987. Use of the sour dough process to improve the quality of wheat bread (saksaksi). *Getreide Mehl und Brot* 41:116-118.
- Salovaara H, Tuukkanen K. 2012. Vehnä- ja ruisjauhot. *Leipurilehti* 8:20-25.
- Santala O. 2013. Pentosaanien spektrofotometrinen määrittäminen viljamateriaalista. Menetelmäohje: tunnus VTT-5646-5610.
- Santos E, Rosell CM, Collar C. 2008. Gelatinization and Retrogradation Kinetics of High-Fiber Wheat Flour Blends: A Calorimetric Approach. *Cereal Chem* 85(4):455-463.
- Schlegel R. 2013. Rye genetics, breeding, and cultivation. Florida, USA: CRC Press. 387 s.
- Schulerud A. 1957. Das Roggenmehl. Detmold, Länsi-Saksa: Moritz Schäfer. 200 s.
- Seibel W, Weipert D. 2001. Bread baking and other food uses around the world. Teoksessa: Bushuk W, toim. Rye: Production, Chemistry, and Technology. St. Paul, Minnesota, USA: AACC Inc. s 147-211.
- Selinheimo E, Kruus K, Buchert J, Hopia A, Autio K. 2006. Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. *J Cereal Sci* 43(2):152-159.
- Selomulyo VO, Zhou W. 2007. Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers. *J Cereal Sci* 45(1):1-17.
- Shewry PR, Bechtel DB. 2001. Morphology and chemistry of the rye grain. Teoksessa: Bushuk W, toim. Rye: Production, Chemistry, and Technology. Minnesota, USA: AACC Inc. s 69-127.
- Simonson L, Salovaara H, Korhola M. 2003. Response of wheat sourdough parameters to temperature, NaCl and sucrose variations. *Food Microbiol* 20(2):193-199.
- Spicher G, Stephan H. 1999. Handbuch sauerteig, biologie, biochemie, technologie. 5p. Hampuri: Behr. 450 s.
- Stear CA. 1990. Handbook of Breadmaking Technology. Lontoo, UK: Elsevier. 848 s.

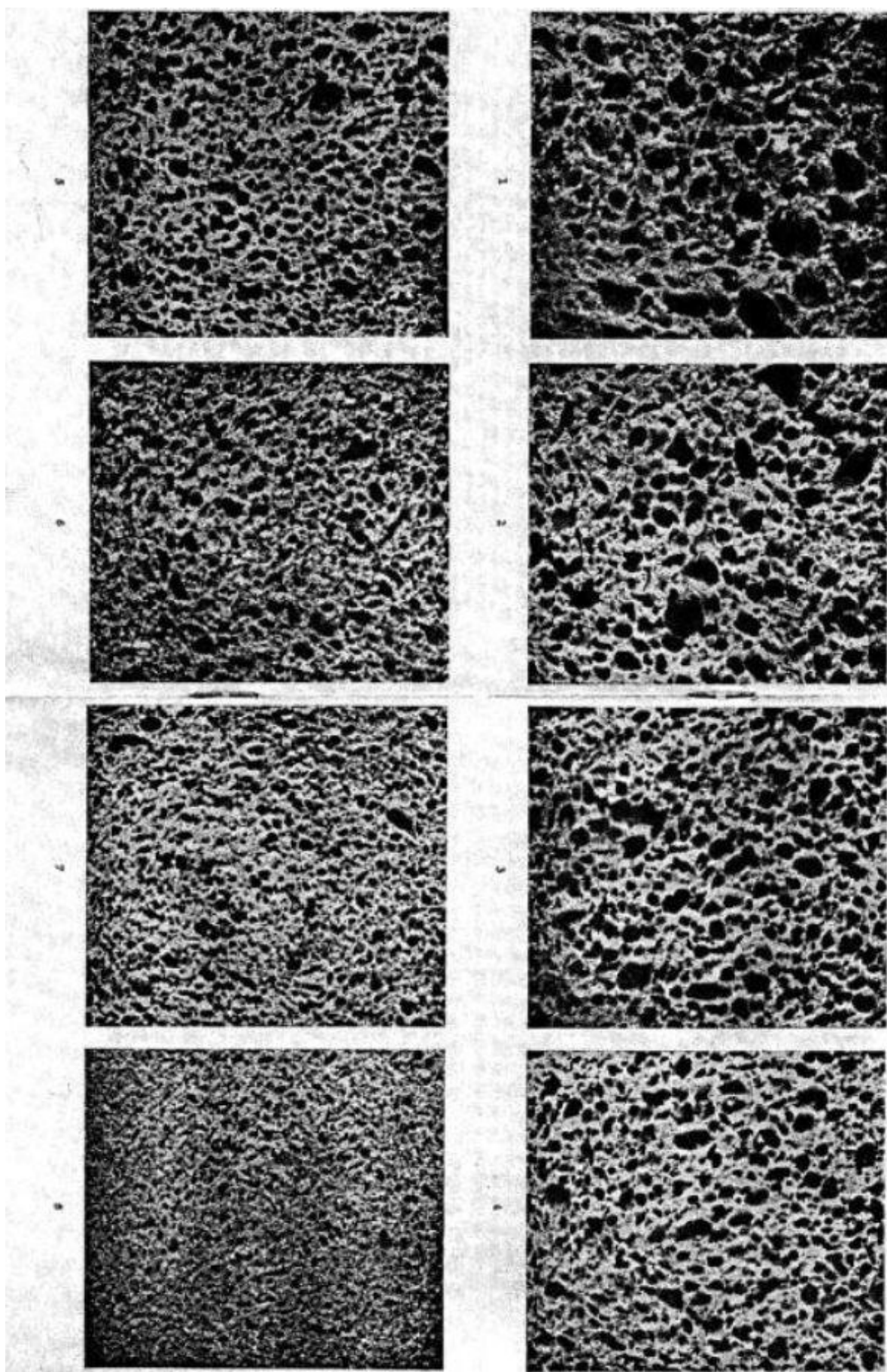
- Stolz P, Böcker G, Vogel RF, Hammes WP. 1993. Utilisation of maltose and glucose by lactobacilli isolated from sourdough. *FEMS Microbiol Lett* 109(2):237-242.
- Thiele C, Gänzle MG, Vogel RF. 2002. Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor. *Cereal Chem* 79(1):45-51.
- Tomerius A-M, Miedaner T, Geiger HH. 2008. A model calculation approach towards the optimization of a standard scheme of seed-parent line development in hybrid rye breeding. *Plant Breeding* 127(5):433-440.
- Tuukkanen K, Lopenen J, Mikola M, Sontag-Strohm T, Salovaara H. 2005. Degradation of secalins during rye sourdough fermentation. *Cereal Chem* 82(6):677-682.
- USDA. Food Composition Databases: Nutrient list. Viitattu 19.1.2017. Saatavilla: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/nutrients/index>
- Valjakka TT, Kerojoki H, Katina K. 2003. Sourdough Bread in Finland and Eastern Europe. Teoksessa: Kulp K, Lorenz K. *Handbook of Dough Fermentations*. New York, USA: Marcel Dekker. s 269-295.
- Vinkx CJA, Delcour JA. 1996. Rye (*Secale cereale* L.) arabinoxylans: a critical review. *J Cereal Sci* 24:1-14.
- Vinkx CJA, Delcour JA, Verbruggen MA, Gruppen H. 1995. Rye water-soluble arabinoxylans also vary in their 2-monosubstituted xylose content. *Cereal Chem* 72:227-228.
- Vogel RF, Knorr R, Miller MRA, Steudel U, Gänzle MG, Ehrmann MA. 1999. Non-dairy lactic fermentations: The cereal world. *Anton Leeuw Int J G* 76(1-4):403-411.
- Vulicevic IR, Abdel-Aal E-M, Mittal GS, Lu X. 2004. Quality and storage life of par-baked frozen breads. *LWT - Food Sci Technol* 37(2):205-213.
- Wehrle K, Arendt EK. 1998. Rheological changes in wheat sourdough during controlled and spontaneous fermentation. *Cereal Chem* 75(6):882-886.
- Wehrle K, Grau H, Arendt EK. 1997. Effects of lactic acid, acetic acid, and table salt on fundamental rheological properties of wheat dough. *Cereal Chem* 74(6):739-744.
- Wong KK, Tan LU, Saddler JN. 1988. Multiplicity of beta-1,4-xylanase in microorganisms: functions and applications. *Microbiol Rev* 52(3):305-317.
- Xu H-N, Huang W, Jia C, Kim Y, Liu H. 2009. Evaluation of water holding capacity and breadmaking properties for frozen dough containing ice structuring proteins from winter wheat. *J Cereal Sci* 49(2):250-253
- Yokoigawa K, Murakami Y, Kawai H. 1995. Trehalase activity and trehalose content in a freeze-tolerant yeast, *torulaspora delbrueckii*, and its freeze-sensitive mutant. *Biosci Biotechnol Biochem* 59(11):2143-2145.
- Zadeike D, Jukonyte R, Juoeikiene G, Bartkiene E, Valatkeviciene Z. 2018. Comparative study of ciabatta crust crispness through acoustic and mechanical methods: Effects of wheat malt and protease on dough rheology and crust crispness retention during storage. *LWT – Food Sci Tech* 89:110-116.
- Zaritzky N. 2012. *Physical-Chemical Principles in Freezing*. Teoksessa: Sun D-W, toim. *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. 2.p. CRC Press. s 3-37.
- Zeleny Y. 1947. A simple sedimentation test for estimating the bread-baking and gluten qualities of wheat flour. *Cereal Chem* 24:465-475.
- Zeleznek KJ, Hosney RC. 1986. The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. *Cereal Chem* 63(5):407-411.
- Zobel HF. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch* 40(1):1-7.
- Zwingelberg H, Sakrar A. 2001. Milling of rye. Teoksessa: Bushuk W, toim. *Rye: production, chemistry, and technology*. 2. p. Minnesota, USA: AACC. s 129-145.

LIITTEET

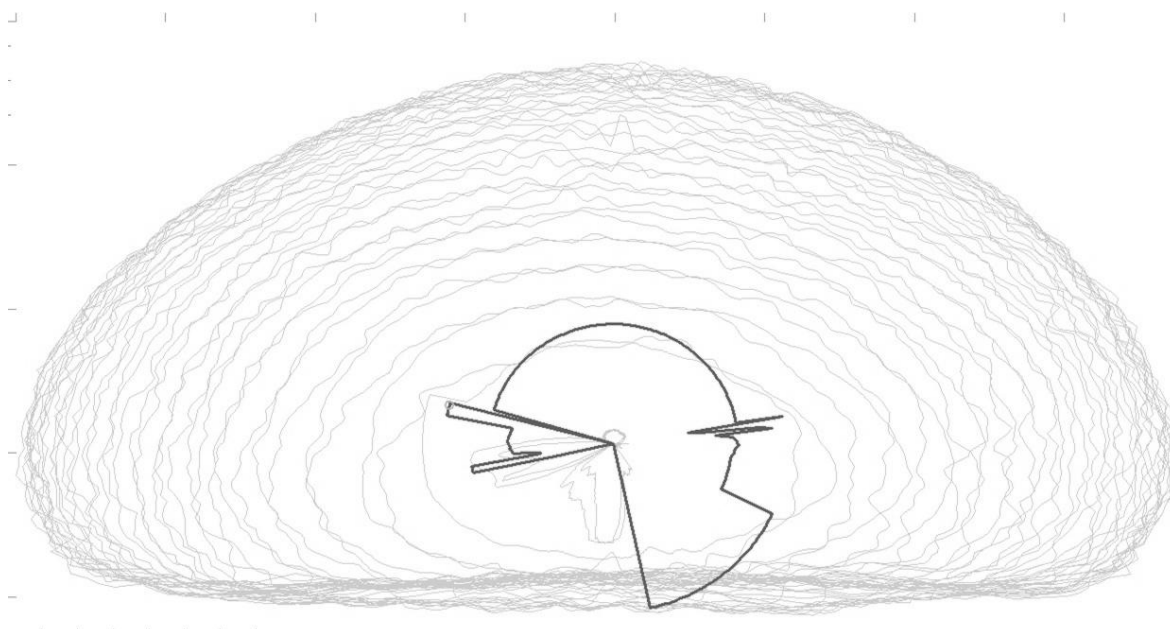
Liite 1. Kaavio leivonta- ja pakastusprosesseista.



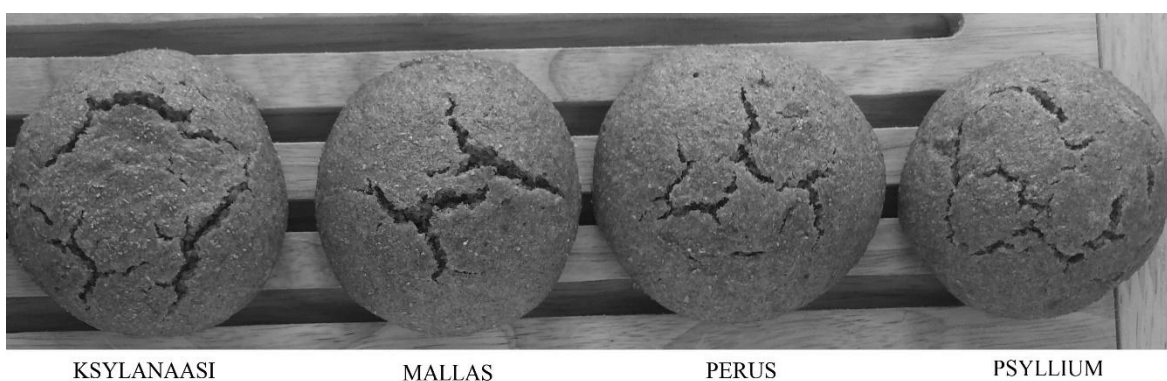
Liite 2. Porentabelle-huokoskokotaulukko (Dallman 1981)



Liite 3. VolScan Profiler -laitteella tehty 3D-malli psylliumruisleivästä (kuvan alapuoli on ruisleivän pohja).



Liite 4. Kuva ruisleipien kuoren repeilystä paiston aikana.



KSYLANAASI

MALLAS

PERUS

PSYLLIUM